

Aus der Augenklinik und Poliklinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. Siegfried Priglinger

**Okuläre Pathologie von
Aderhautmelanomen nach
Ruthenium-106-, Gamma-Knife- und
Cyber-Knife-Bestrahlung**

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der
Medizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-
Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Kaltrina Zahiti-Rashiti, geb. Zahiti
aus Mitrovica

2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatlerin: Prof. Dr. Elisabeth M. Messmer

Mitberichterstatler: Prof. Dr. Jochen Herms
Prof. Dr. Carl-Ludwig Schönfeld
Prof. Dr. Thomas Berninger

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 19.07.2018

Inhaltsverzeichnis

Einführung	6
Anatomie der Aderhaut	6
Makroskopische Grenzen	6
Mikroskopische Grenzen	6
Epidemiologie des uvealen Melanoms	7
Häufigkeit und Lokalisation	7
Geschlecht und Alter	7
Klinik des Aderhautmelanoms	7
Erstsymptome	7
Einteilung	8
Histopathologische Einteilung von Uveamelanomen	8
Maligne Transformation eines Aderhautmelanoms aus einer okulodermalen Melanozytose oder einem Aderhautnävus	14
Diagnostik	15
Erstdiagnose	15
Biopsie	16
Ausschluss systemischer Metastasen	16
Therapie des Aderhautmelanoms	17
Brachytherapie	17
Protonentherapie	18
Moderne Radiochirurgieverfahren	19
Endoresektion bei Aderhautmelanom	25
Alternative Therapieoptionen: Transpupilläre Strahlentherapie und intravitreale Bevacizumabtherapie	26
Enukleation	27
Prognose bei Aderhautmelanom	27
Überlebenszeit	27
Metastasen	28
Genetische Tests	28
Chromosomenaberration und Genmutation	29
Zielsetzung	30
Material und Methodenteil	31
Patienten	31
Geschlecht	31
Alter	31

Betroffenes Auge.....	31
Erstdiagnose-Bestrahlung-Enukleation.....	31
Bestrahlungsart	31
Bestrahlungsdosen.....	32
Sonographische Befunde	32
Klinische Befunde	33
Visus bei Erstdiagnose und vor Enukleation.....	33
Intraokulärer Druck vor Erstdiagnose und vor Enukleation	33
Komplikationen.....	33
Indikation zur Enukleation	34
Histologie.....	35
Vorbereitung des histologischen Untersuchungsmaterials und Fixierung des Nativmaterials	35
Färbemethoden.....	35
Beurteilung histologischer und immunhistochemischer Parameter der nach Bestrahlung enukleierten Bulbi mit Aderhautmelanom durch zwei unabhängige Personen.....	41
Tumorage	41
Zelltyp	41
Mitosen	41
Ballonzellen.....	41
Immunhistochemische Reaktion, Tumorgefäße und Tumorpigmentierung	42
Tumurvitalität und Tumorregression	43
Tumornekrose	44
Tumorblutung	44
Beurteilung einer	44
Tumorinfiltration in die Sklera	45
Tumorinfiltration in den Nervus opticus.....	45
Statistische Auswertung.....	46
Ergebnisse	47
Patienten	47
Geschlecht	47
Alter.....	47
Betroffenes Auge.....	47
Zeitdauer zwischen Erstdiagnose, Bestrahlung und Enukleation.....	47
Bestrahlungsart	48
Bestrahlungsdosen.....	48
Sonographische Befunde	48

Klinische Befunde.....	49
Histologische Parameter.....	52
Tumorage52	52
Zelltyp52	52
Mitosen54	54
Ballonzellen.....55	55
Immunhistochemische Marker.....56	56
Tumorpigmentierung66	66
Tumurvitalität.....66	66
Tumornekrose67	67
Tumorblutung69	69
Rubeosis iridis.....69	69
Tumordinfiltration in den Glaskörper.....70	70
Durchbruch durch die Bruch-Membran.....70	70
Tumordinfiltration in die Netzhaut und Ablatio retinae.....71	71
Tumordinfiltration in die Sklera72	72
Tumordinfiltration in den Nervus opticus.....75	75
Diskussion.....	76
Zusammenfassung.....	82
Tabellenverzeichnis.....	85
Abbildungsverzeichnis.....	86
Literaturverzeichnis.....	87
Eidesstattliche Versicherung.....	92
Lebenslauf.....	93
Danksagung.....	94

Einführung

Anatomie der Aderhaut

Makroskopische Grenzen

Die Aderhaut (Choroidea) bildet zusammen mit der Regenbogenhaut (Iris) und dem Ziliarkörper (Corpus ciliare) die mittlere Augenhaut (Tunica vasculosa). Anatomisch liegt sie zwischen Sklera und Retina. Die Bruch-Membran bildet die Grenze zwischen Choriokapillaris der Aderhaut und Retina (1).

Mikroskopische Grenzen

Die Aderhaut wird histologisch in 4 Schichten unterteilt:

1. Die Lamina suprachoroidea besteht aus Kollagenfaserbündel und ist reich an Melanozyten, Fibroblasten und Nervenplexus mit Nervenzellen (1).
2. In der Lamina vasculosa verzweigen sich Arteriolen und Venulen der Aderhautgefäße, um die sich innervierende Nervenzellen sowie Melanozyten anlagern (1).
3. Die bereits oben erwähnte Lamina choroideocapillaris bildet die innerste Gefäßschicht der Aderhaut und liegt unterhalb des Pigmentepithels (1).
4. Der Complexus basalis oder die Bruch-Membran wird als Teil der Choroidea angesehen und ist auch gleichzeitig Basalmembran des Pigmentepithels (1).

Die Arteriae ciliares posteriores und anteriores sind für die Blutzufuhr der Aderhaut zuständig, wobei erstere den größeren Teil der Aderhaut versorgen. Erstaunlicherweise ist trotz des großen Gefäßreichtums die Sauerstoffausschöpfung mit 3% relativ gering. Das venöse Blut fließt über 4 bis 6 Vortexvenen ab, die von Nervi ciliares longi und breves innerviert werden. Die Gesamtzahl der Nervenzellen in der Choroidea beträgt zirka 2000 (1).

Epidemiologie des uvealen Melanoms

Häufigkeit und Lokalisation

Das uveale Melanom ist der häufigste primäre intraokuläre Tumor des Auges (2). In ungefähr 70% der Fälle ist der Tumor im hinteren Augenabschnitt oder subretinal lokalisiert (2,3). Ungefähr 12% aller uvealen Melanome sind in der Iris oder im Ziliarkörper lokalisiert (2,4). Beide Augen sind in etwa gleich häufig betroffen (5,6,7). Die altersentsprechende Inzidenz des uvealen Melanoms beträgt 4,3/ 1000 000 in den USA (5). In Europa liegt die Inzidenz zwischen 2/ 1000 000 in Italien und Spanien, 4-5/ 1000 000 in Frankreich und Deutschland und >6/ 1000 000 in Großbritannien. Häufiger kommt das uveale Melanom in nördlicheren Ländern vor (2,4,5). In ungefähr 98% erkrankten Patienten der weißen Bevölkerung an einem uvealen Melanom (5,6,7). Die Inzidenz hinsichtlich der Verteilung in der hellhäutigen und dunkelhäutigen Bevölkerung beträgt beim Aderhautmelanom 196:1. Bei 88,6% der Patienten ist keine andere maligne Erkrankung bei Diagnosestellung bekannt gewesen (6).

Geschlecht und Alter

Die Häufigkeit des uvealen Melanoms ist geschlechtsunspezifisch (51,8% Männer und 48,2% Frauen) und das mediane Alter liegt bei Diagnosestellung bei ungefähr 62 Jahren. Ab dem 80. Lebensjahr erkranken Männer mit einer Verteilung von 3:2 häufiger als Frauen an einem Aderhautmelanom (4). Es gibt eine signifikante Assoziation zwischen männlichem Geschlecht und Metastasierungsinzidenz (8).

Klinik des Aderhautmelanoms

Erstsymptome

Meist bleiben Aderhautmelanome lange unerkannt. Typische Erstsymptome können eine akute Visusminderung, Metamorphopsien oder Gesichtsfelddefekte sein. Seltener präsentieren sich Aderhautmelanome auch mit intraokulärem Druckanstieg, schmerzhaftem Auge und Tränenträufeln.

Einteilung

Die Collaborative Ocular Melanoma Study Group hat 1997 eine Größeneinteilung von choroidalen Melanomen (Tabelle 1) festgelegt. Tumore werden bei einer Tumorprominenz von 1-3 mm und basalem Durchmesser von 5-6 mm als klein bezeichnet. Als mäßiggroß wird ein Tumor bei einer Tumorprominenz von 3,1-8 mm und basalem Durchmesser von <16 mm definiert. Große Tumore haben eine Tumorprominenz von >8 mm oder ≥ 2 mm bei einem basalen Durchmesser von >16 mm (3).

Tabelle 1 Größeneinteilung von choroidalen Melanomen nach COMS 1997

	Klein	Mäßiggroß	Groß
Tumorprominenz (TP)	1-3 mm	3,1-8 mm	>8 mm oder $\geq 2 + \text{BD} >16 \text{ mm}$
Basaler Durchmesser (BD)	5-6 mm	<16 mm	>16 mm

Histopathologische Einteilung von Uveamelanomen

Histologisch unterscheidet man zwischen spindelzelligem malignem Melanom, gemischtzelligem malignem Melanom und epitheloidzelligem malignem Melanom. Die Diagnose von spindelzelligen und epitheloidzelligen malignen Melanomen kann anhand unterschiedlicher Parameter gestellt werden: Zellgröße und -form, zytoplasmatische Eigenschaften, nukleäre und nukleoläre Charakteristika sowie Kohäsionsverlust (9).

Das uveale Melanom wird mit Hilfe einer TNM-Klassifikation eingeteilt:

T charakterisiert den Primärtumor:

T0	Kein Primärtumor
T1	Größte Tumorbreite (Basis) ≤ 10 mm, Tumorprominenz ≤ 3 mm
T1 a	Größte Tumorbreite (Basis) ≤ 7 mm oder Tumorprominenz ≤ 2 mm
T1 b	Größte Tumorbreite (Basis) > 7 mm, aber ≤ 10 mm oder Tumorprominenz > 2 mm, aber ≤ 3 mm
T2	Größte Tumorbreite (Basis) > 10 mm, aber ≤ 15 mm, Tumorprominenz > 3 mm, aber ≤ 5 mm
T3	Größte Tumorbreite (Basis) > 15 mm, Tumorprominenz > 5 mm
T4	Tumor mit extraokulärer Ausbreitung
Tx	Die Ausdehnung des Primärtumors kann nicht ermittelt werden

N charakterisiert den Befall der Lymphknoten:

N0	Kein Befall regionärer Lymphknoten
N1	Nachgewiesener Befall
Nx	Der Befall kann nicht ermittelt werden

M charakterisiert das Auftreten von Fernmetastasen:

M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen nachgewiesen
Mx	Das Auftreten von Fernmetastasen kann nicht ermittelt werden

Spindelzelliges Aderhautmelanom

Maligne Melanome vom Spindelzelltyp sind durch ihre Spindelzellen, ihr verschwommenes Zytoplasma und wenig Mitosen gekennzeichnet. Man unterscheidet zwei Typen von Tumorzellen: Spindelzellen-A und Spindelzellen-B. Spindelzellen-A haben die Eigenschaft eng aneinander zu liegen. Sie haben einen langgezogenen ovalen Nukleus mit kleinem Nukleolus und eine longitudinale Kerbe in der nukleären Membran. Reine Spindelzellen-A-Tumore sind klein und sehr selten. Spindelzellen-B sind größer als Spindelzellen-A, haben einen größeren Nukleus und einen prominenten Nukleolus (9,10).

Epitheloidzelliges Aderhautmelanom

Bei Vorliegen von vermehrt runden großen Zellen mit großem Nukleus und prominentem eosinophilen Nukleolus sowie reichlichem Zytoplasma mit Kohäsionsverlust wird ein malignes Melanom als epitheloidzellig definiert (9).

Gemischtzelliges Aderhautmelanom

Bei einem Anteil <50% dieser oben genannten histomorphologischen Charakteristika spricht man von einem gemischtzelligen malignen Melanom (9). Gemischtzellige maligne Uveamelanome haben meist niedrige Mitoseraten und häufig fokale Nekrosen (10).

Häufigkeiten der Tumorzelltypen

Mit 86% ist der gemischtzellige Tumorzelltyp die häufigste Tumorentität. Spindelzellige machen 9% und epitheloidzellige maligne Melanome 5% aller malignen Melanome aus. Größere Tumore sind eher gemischtzellig oder epitheloidzellig. Gelegentlich werden vollkommen nekrotische maligne Melanome diagnostiziert.

In diesen Fällen kann jedoch aufgrund fehlender histomorphologischer Eigenschaften keine eindeutige Einteilung des Tumors erfolgen (9).

Mikroskopische Lokalisation des Aderhautmelanoms

96,3% aller Tumoren liegen vollkommen oder partiell posterior bis zum Äquator, 73% der Tumore finden sich im Äquatorbereich, 62,5% sind partiell zwischen Ora serrata und Äquator und 35% partiell im Ziliarkörper lokalisiert. Eine Tumordinfiltration des trabukulären Maschenwerks wird in 7,9% und der Iris in 4,7% beobachtet (9). Es gibt keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Tumorzelltyps sowie der Tumorkalisation bei mäßiggroßen Tumoren. Signifikante Unterschiede werden in der Kohorte der großen Tumore gesehen: ein geringerer Anteil der spindelzelligen Tumore breitet sich nach anterior aus im Vergleich zu den gemischtzelligen oder epitheloidzelligen Tumoren. Insgesamt wird der vordere Tumorrand bei großen Tumoren am Äquator oder anterior davon beobachtet. Mäßiggroße Tumore hingegen sind in 54,5% gänzlich posterior bis Äquatorbereich lokalisiert. 16,7% aller Tumore sind juxtapapillär gelegen, davon wiederum machen größere Tumore sowie Epitheloidzelltyp mit jeweils 22,6% und 28,6% den größten Anteil aus (9).

Tumorstwachstumsmuster und –invasion in den Nervus opticus

Beim Tumorstwachstum unterscheidet man zwischen einem diffusen und einem vertikalen Wachstumsmuster. In 95,9% der Fälle wird ein vertikales Tumorstwachstumsmuster beobachtet. Dieses ist gekennzeichnet durch eine Verdrängung der Bruch-Membran (sogenannte „Kragenknopfform“ des Tumors). In 87,7% sind damit auch mikroskopische Rupturen der Bruch-Membran assoziiert (9). Diffus wachsende Tumoren werden bei 3,8% der Patienten gesehen (9). Eine intraokuläre Tumordinvasion kann in folgenden Augenabschnitten vorkommen: Retina, Glaskörper, Vortexvenen, Tumorgefäße, Bruch-Membran mit oder ohne Ruptur, Sklera und Emissarien. Signifikant häufiger kommt eine Tumordinvasion bei großen Tumoren im Vergleich zu mäßiggroßen Tumoren vor. Es zeigen sich bei mäßiggroßen und großen spindelzelligen Tumoren weniger Rupturen der Bruch-Membran (9).

Keine oder eine minimale Sklerainvasion der inneren Schichten liegt in 36,2% der Fälle vor (9). Große Tumoren des gemischtzelligen und epitheloidzelligen Tumortyps neigen signifikant häufiger zu einem skleralen oder extraskleralen Wachstum mit Tumoranteilen in der Orbita (9). Am seltensten wird eine Invasion in die Emissarien bei mäßiggroßen Tumoren vom Spindelzelltyp beobachtet. Spindelzellige maligne Melanome sind – wenn sie groß sind – mit einer häufigeren Tumorzellausbreitung in die Tumorgefäße assoziiert (9). Eine Invasion in den Nervus opticus wird bei 6,9% aller Fälle beobachtet, jedoch kommt sehr selten eine Ausbreitung über die chirurgische Nervendurchtrennung bei Eukleation vor. Größere Tumore neigen häufiger dazu den Nervenkopf zu befallen (10,2%) (9).

Mitosen

Mitosen als Hinweis auf Tumoraktivität werden bei Patienten mit größeren Tumoren, die vor der Eukleation eine externe Radiotherapie erhielten weniger häufig gesehen, als bei Patienten mit großen Tumoren, die sich direkt einer Eukleation unterzogen (9,11). Es gibt jedoch keine Hinweise auf Unterschiede hinsichtlich des Auftretens mitotischer Figuren zwischen den einzelnen Tumorzelltypen (9).

Tumornekrose, Tumorpigmentierung und Entzündungszeichen

Ungefähr die Hälfte der Tumoren zeigt keine oder nur eine minimale Pigmentierung. Eine starke Pigmentierung ist mit großen Tumoren und einem epitheloidzelligen Tumorzelltyp assoziiert (9). Makrophagen werden häufiger in größeren Tumoren und bei epitheloidzelligen malignen Melanomen gesehen. Das Auftreten von Makrophagen ist vor allem bei starker Inflammation und zunehmendem Nekroseanteil zu beobachten (9,12,13).

Neovaskularisation an der Iris

Neovaskularisationen an der Iris kommen bei 6,1% aller Patienten mit einem Aderhautmelanom klinisch vor und sind eher mit größeren Tumoren assoziiert (8,3%). Es gibt keine Hinweise auf ein tumorzellspezifisches Auftreten der Rubeosis iridis, jedoch kann diese häufiger in größeren Tumoren mit einem Nekroseanteil >50% beobachtet werden (9). Eine Rubeosis iridis wurde seltener in nichtbestrahlten Augen mit uvealem Melanom beobachtet (11).

Tumorgefäße und Tumorausbreitung

92% aller Tumore zeigen Tumorgefäße. Prominente Tumorgefäße werden häufiger bei gemischtzelligen und epitheloidzelligen Tumoren beobachtet. Eine Ruptur der Bruch-Membran ist in erster Linie mit einer Tumorgefäßprominenz und auch mit einer signifikant häufigeren Tumorzellausbreitung in die Tumorgefäße assoziiert (9).

Ballonzellen

Ballonzellen sind vakuolisierte Zellformationen, die vor allem nach Bestrahlung von uvealen Melanomen gesehen werden (14). Sie kommen unabhängig der Tumorgöße in 70,3% aller Fälle vor. Maligne Melanome vom Epitheloidzelltyp zeigen einen größeren Anteil an Ballonzellen in Tumoren (9).

Tumorprominenz und basaler Diameter

Eine initial größere Tumorprominenz oder ein größerer basaler Durchmesser sowie das Vorhandensein von „Orange-Pigment“ sind signifikant mit einer Tumorzunahme im Verlauf assoziiert. Drusen und die Fläche mit RPE-Veränderung um den Tumor sind keine klinischen Zeichen eines Tumorwachstums (3).

Maligne Transformation eines Aderhautmelanoms aus einer okulodermalen Melanozytose oder einem Aderhautnävus

Okulodermale Melanozytose

Eine okulodermale Melanozytose ist eine gesteigerte Proliferation von Melanozyten, die sich vor allem an der Sklera (92%), Iris (17%) und Aderhaut (12%) präsentieren kann (15). In einer repräsentativen Studie beträgt die Prävalenz 0,038% in der weißen und 0,014% in der schwarzen Bevölkerung (16).

Aderhautnävus

Bei einem Aderhautnävus handelt es sich um eine benigne melanozytäre Veränderung. Die Prävalenz choroidaler Nävi liegt zwischen 4,6% und 7,9% in den USA. Die jährliche Transformationsrate von einem Aderhautnävus in ein Aderhautmelanom liegt bei 1/269 565 für junge Personen (15-19 Jahre) und bei 1/3664 für ältere Personen (80-84 Jahre) (17). Die Abgrenzung zwischen einem kleinen Aderhautmelanom und einem Aderhautnävus kann schwierig sein.

Shields CL et al. untersuchten in einer großen Studie das Potenzial einer Transformation choroidaler Nävi in ein malignes Aderhautmelanom und definierten folgende klinische Zeichen, die mit einer möglichen malignen Transformation in ein Aderhautmelanom signifikant assoziiert waren: Tumordicke > 2mm, subretinale Flüssigkeit, klinische Symptome (wie Visusabfall), Orange Pigment und Tumorrannähe von 3 mm zum Sehnerven (18). Die Nähe des Aderhautnävus zur Foveola ist ein signifikanter Risikofaktor für ein Aderhautmelanom (19).

Diagnostik

Erstdiagnose

In der Regel wird die Diagnose eines Aderhautmelanoms klinisch mit Hilfe der binokularen indirekten Ophthalmoskopie, eines okulären Ultraschalls und gegebenenfalls mit einer Fluoreszenzangiographie gestellt. Letztere Untersuchung kann mit Hilfe eines über die Blutbahn verteilten Farbstoffes (Fluoreszein) Hinweise zur Vaskularität des Tumors geben und gegebenenfalls ein Aderhautmelanom von anderen intraokulären Tumoren abzugrenzen. Ultraschalluntersuchungen geben aussagekräftige Hinweise auf Malignität, Perforation durch Bruch-Membran, extraokuläre Ausbreitung, Ablatio retinae und sind insbesondere in der Differenzialdiagnose und Verlaufskontrolle hilfreich. Die Collaborative Ocular Melanoma Study Group definierte 2008 wichtige Ultraschalluntersuchungskriterien bei Aderhautmelanom: eine apikale Tumorprominenz (> 10 mm) war unter anderem mit einer niedrigeren internen Reflektivität, einer weiter anterior gelegenen Tumorlokalisation, Tumorapex im nasalen Quadranten, männlichem Geschlecht und Rauchen assoziiert (20). Die untersuchten Tumore hatten eine für Melanom typische Reflektivität (5-60% Spitzenniveau) bei Kuppel- oder Pilzform des Tumors (20). Atypisch interne Reflektivitätslevel wurden häufiger bei irregulär konfigurierten Tumoren beobachtet (20). Die Reflektivität war statistisch nicht mit dem Zelltyp assoziiert (20). Statistisch signifikant ist die Assoziation von epitheloidzelligen Tumoren und einer apikalen Tumorprominenz > 10 mm (20). Eine Zunahme der Reflektivitätslevel ist vom prozentualen Nekroseanteil abhängig (20). Uveale Melanome lassen sich auch magnetresonanztomographisch gut diagnostizieren. Diese Tumore erscheinen als hyperintense Läsionen in T1-gewichteten und als hypointense Läsionen in T2-gewichteten MRI-Bildern (21).

Der Nachweis von uvealen Melanomen kann auch mit Hilfe einer Computertomographie erfolgen. In 75% der Fälle können nach Kontrastmittelgabe Tumore mit einer Prominenz zwischen 2,5 und 3,5 mm diagnostiziert werden. Eine Darstellung im CT ohne Kontrastmittel gelang nur in 34% (22).

Biopsie

Eine Biopsie kann helfen, klinisch nicht klassifizierbare Tumore zu beurteilen. Mit Hilfe einer Aspiration (400 mmHg) und niedriger Schneidefrequenz (80/min) werden kleine Tumorbiopsien entnommen und mit einer Spritze aspiriert. Anschließend wird der initial auf zirka 70 mmHg erhöhte, intraokuläre Druck langsam über zirka vier Minuten auf 42 mmHg gesenkt. *Bechrakis et al.* berichteten, dass in 97% der Fälle eine Diagnose mittels Biopsie gestellt werden kann. Beispielsweise wurde bei 73% der unklaren Iristumore nach der Biopsie ein Irismelanom diagnostiziert und eine Behandlung eingeleitet (23). Bei unklaren posterior gelegenen uvealen Tumoren müssen meist amelanotische uveale Melanome und Metastasen differenzialdiagnostisch ausgeschlossen werden. Vor allem Adenokarzinome der Mamma und Lunge können in die Uvea metastasieren (23). Ein uveales Melanom kann in 57% der Fälle bei unklaren posterior gelegenen uvealen Tumoren diagnostiziert werden (23). Allgemeine chirurgische Operationsrisiken wie Blutungen und Infektionen können im Rahmen einer Biopsie auftreten (23). *Bechrakis et al.* berichteten in oben bereits dargestellter Studie, dass lediglich ein Patient eine multifokale intraokuläre Streuung fünf Monate nach der Biopsie entwickelte. Nach Enukleation des betroffenen Auges gab es 52 Monate danach keinen Anhalt für ein lokales Tumorrezidiv oder Metastasen (23).

Ausschluss systemischer Metastasen

Zum Ausschluss systemischer Metastasen sind nach gesicherter Diagnose unter anderem Lebersonographie und PET-CT indiziert. *Klingenstein et al.* zeigten, dass eine PET-CT Untersuchung vitale Metastasen bei Patienten erfassen kann (24).

Serologische Marker wie Osteopontin und „Melanoma Inhibitory Activity“ können uveale Metastasen aufdecken. Der mediane Osteopontin-Plasmaspiegel bei Patienten mit Metastasen war im Vergleich mit Patienten ohne Metastasen signifikant höher (152,01 ng/ml versus 47,39 ng/ml). Patienten mit uvealen Metastasen hatten auch signifikant höhere mediane „Melanoma Inhibitory Activity“-Plasmawerte von 13,11 ng/ml als Patienten ohne klinische Metastasen (5,64 ng/ml) (25).

Therapie des Aderhautmelanoms

Brachytherapie

Die Anfänge der Brachytherapie gehen in die 1930er Jahre zurück, als zum ersten Mal bei choroidalem Sarkom ein Patient mit Hilfe von intraokulären Radon-Applikatoren bestrahlt wurde (26). Nachdem in den 1960er Jahren Stimmen laut wurden, dass es zu viele Enukleationen aufgrund von Fehldiagnosen gäbe (27), begann sich die konservative Brachytherapie in Europa durch Lommatzsch als Therapieoption zu entwickeln (28).

Mittlerweile werden Iod-125- und Ruthenium-106-Applikatoren bei uvealem Melanom zur konservativen Therapie angewendet. Während Iod-125-Plaques Gammastrahlung mit großer Reichweite abgeben und insbesondere bei größeren Tumoren verwendet werden, kommen Ruthenium-106-Applikatoren aufgrund der kleineren Reichweite bevorzugt bei kleinen Tumoren zum Einsatz (29).

Die Ruthenium-106- oder Iod-125-Applikatoren werden nach genauer Inspektion und Lokalisation des Tumors auf die Sklera aufgenäht und nach Erreichen einer angemessenen Dosis nach einigen Tagen wieder entfernt (30).

Patienten mit klinisch diagnostiziertem mittelgroßem Aderhautmelanom (zwischen 2,5 und 10 mm Tumorprominenz und <16 mm basalem Durchmesser) kommen für eine Brachytherapie in Frage. Ebenso Patienten mit kleinem wachsendem Tumor. Eine Plaquetherapie wird bei extraskleralem Tumorwachstum, zirkulär wachsenden Tumoren und einer Infiltration des Ziliarkörpers von mehr als 50% nicht empfohlen (31). In einer Studie von *Russo et al.* musste bei einer Nachbeobachtung von drei Jahren, einer medianen Bestrahlungsdauer von 52 Stunden, einer medianen basalen Dosisbestrahlung von 7,02 Gy/h, einer medianen Apexbestrahlung von 98,5 Gy und einer medianen apikalen Bestrahlung von 1,82 Gy/h kein einziges Auge enukleiert werden. Bei 4 von 54 Patienten kam es zu einem Rezidiv und es folgten entsprechende weitere therapeutische Maßnahmen zur Tumorkontrolle (32). Zu den allgemeinen Risiken der Brachytherapie gehören Katarakt (9,2%), Makulaödem (9,2%), radiogene Makulopathie (7,4%), Makuladegeneration (5,5%), epiretinale Membran (1,8%), exsudative Netzhautablösung (1,8%), Optikusneuropathie (1,8%), Diplopie (1,8%) und Episkleritis (1,8%) (32).

Der Regressionsprozess beginnt 1-2 Monate nach der Therapie und dauert meist einige Jahre (30). Laut *Damato et al.* beträgt das Risiko eines lokalen Therapieversagens 1,4 % (33).

Protonentherapie

Die Protonentherapie wird bei Tumoren eingesetzt, die entweder zu groß sind für eine Brachytherapie oder zu weit posterior liegen. Mithilfe von sogenannten „Tantalum-Markern“, die auf die Sklera aufgenäht werden, kann die Lokalisation des Tumors definiert werden. Während der Therapiesitzung sitzt der Patient mit fixiertem Kopf auf einem Stuhl und fixiert ein Objekt. *Macdonald et al.* haben entsprechend COMS-Tumorgrößeneinteilung (3) mittelgroße Ziliarkörper- und Aderhautmelanome (51,9%) und große Ziliarkörper- und Aderhautmelanome (45,9%) mit Protonentherapie behandelt (34). In 22,4% wurde trotzdem eine Enukleation aufgrund von mutmaßlichem Rezidiv (48%), neovaskulärem Glaukom (42%) oder anderen radiogenen Komplikationen (10%) notwendig (34). In einer anderen Studie wurde eine Tumorprominenz von $\geq 4,8$ mm als unabhängiger ungünstiger prognostischer Faktor ermittelt (35). Eine lokale 5-Jahres-Tumorkontrolle konnte bei einer Gesamtbestrahlungsdosis von 60 CGE (Cobalt Gray Equivalent) über 4 Tage in 96% erreicht werden (35). Innerhalb von fünf Jahren nach Bestrahlung kam es zu unterschiedlichen radiogenen Komplikationen: Makulopathie (66,5%), Optikusneuropathie (23,4%), Glaukom (28,6%), Katarakt (61,8%), Keratitis (11,5%), Glaskörperblutung (13,9%) und intraokuläre Entzündung (11,5%) (35). Die metastasenfreie 5-Jahres-Überlebensrate betrug 80,6% (35).

Moderne Radiochirurgieverfahren

„Radiosurgery has established its efficacy and safety and offers an operative system which, combined with sophisticated modern diagnostic methods, makes the depths of the brain more accessible.“ (Lars Leksell)

Gamma Knife

Eine moderne Therapieoption ist die stereotaktische Radiochirurgie. In den 1950er Jahren entwickelt Lars Leksell und Borje Larsson das erste Gamma-Knife-Gerät. Die grundlegende Idee ist, ungünstig gelegene zerebrale Läsionen, arteriovenöse Malformationen, Akustikusneurinome, Kraniopharyngeome, sowie Hypophysenadenome mit Cobalt-60-Strahlen zu behandeln und somit das Risiko für intraoperative Infektionen und Blutungen zu reduzieren. Unerlässlich für dieses Therapieverfahren ist eine präzise Lokalisation des Bestrahlungsfeldes. Die Computertomographie wird in der Regel zur Lokalisation des zu bestrahlenden Gewebes verwendet (36). Seit 1995 war es an der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität möglich Augen mit großem Aderhautmelanom mit Gamma-Knife-Radiochirurgie zu behandeln (Abbildung 1).

Eine Gamma-Knife-Behandlung bei Aderhautmelanom umfasst folgende Behandlungsschritte: Der Kopf des Patienten wird mit Hilfe eines stereotaktischen Gestells fixiert und eine retrobulbäre Anästhesie gegeben, um eine Akinesie des Bulbus zu erreichen. Im Anschluss wird eine hochauflösende Magnetresonanztomographie-Aufnahme vom Kopf gemacht und das Tumolvolumen berechnet. Mit Hilfe dieser Daten können danach die Bestrahlungsparameter berechnet werden. Das Zielvolumen wird so definiert, dass der Tumor innerhalb der 50%-Isodosis liegt. Folglich wird jeder Tumorbereich mit 25 bis 50 Gy bestrahlt (37).

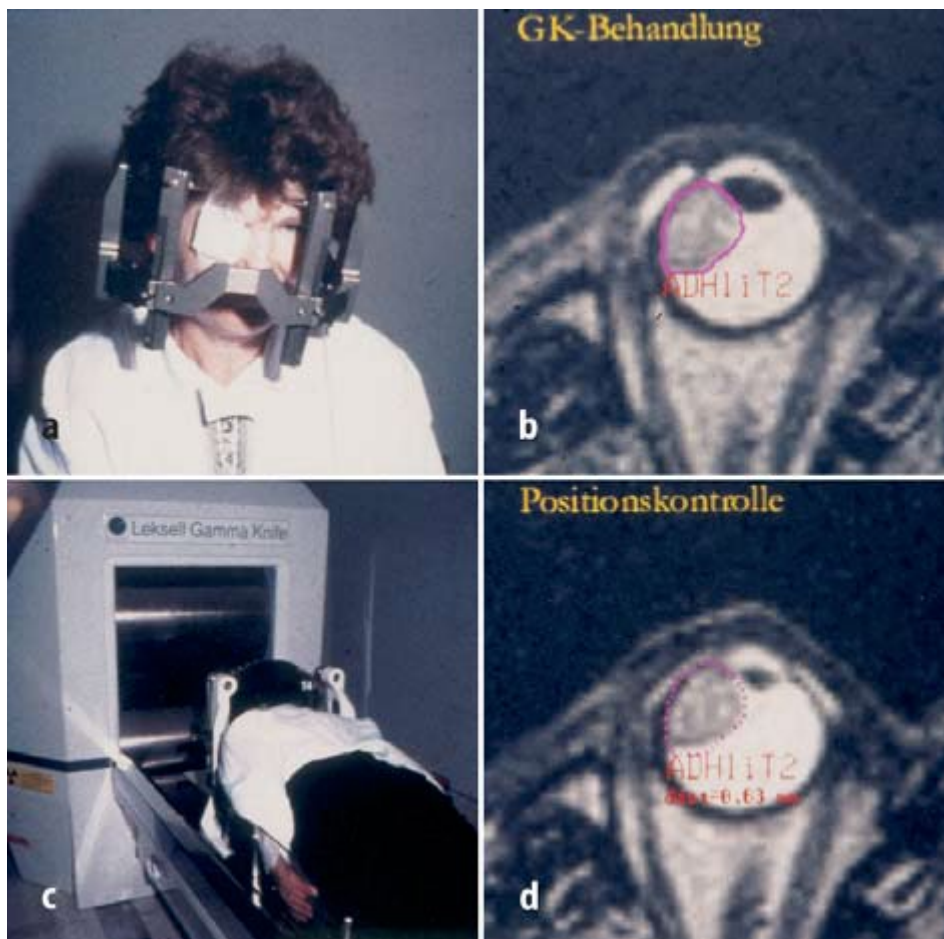


Abbildung 1 a. Patient mit linksseitigem uvealem Melanom nach Anbringung des stereotaktischen Rahmens und nach Applikation der Retrobulbäranästhesie. **b.** Hochauflösendes MRT (3D-MPR, T2w) dieses Tumors mit Bestrahlungsplanung. **c.** Patient nach Lagerung auf dem Hydraulis

Das Bestrahlungsfeld liegt im zentralen Bereich des Kollimators (36). Die 201 Kobalt-60-Quellen geben über 5 Zylinder ihre Bestrahlung ab. Diese Zylinder haben eine spezifische Aktivität von 150 Curie/g. Jeder abgegebene Bestrahlungsstrahl ist parallel gerichtet. Damit können relativ schwache Bestrahlungseinheiten lokalisiert einmalig abgegeben und das umliegende Gewebe, beispielsweise der Nervus opticus oder die Linse, weniger belastet werden. Die sogenannte angewendete „*Conformation technique*“ basiert auf dem Prinzip einer selektiven Deaktivierung von Strahlen, sodass ein nichtsphärisches Bestrahlungsvolumen geschaffen werden kann, um das Bestrahlungsfeld an ein irreguläres, dreidimensionales Volumen zu adaptieren (37). Auf diese Weise können mit Hilfe des „*beam shaping*“ abgegebene Bestrahlungseinheiten an das umliegende Gewebe minimiert werden (36). In einer Studie von *Wackernagel et al.* konnte bei einem medianem Follow-Up von 39,5 Monaten und einer medianen Behandlungsdosis von 30 Gy eine Tumorkontrolle von 97,4% mit Gamma-Knife-Radiochirurgie erreichen (38). Die kumulative Rezidivinzidenz betrug nach 1, 2, 5 und 10 Jahren jeweils 2,4%, 5,8%, 5,8% und 7,6% (38). Das Risiko für eine Eukleation war 7,2% nach 1 Jahr, 12,8% nach 2 Jahren und 18,4% nach 5 und 10 Jahren (38). Bei 25 von 177 Patienten (14,1%) musste zwischen 17 Tage und 68 Monate nach Gammaknife-Radiochirurgie (median: 13,9 Monate) eine sekundäre Eukleation durchgeführt werden (38). *Mueller et al.* erreichten eine statistisch hoch signifikante Abnahme der Tumorprominenz in den ersten beiden Jahren nach Behandlung (37). 12% der Patienten entwickelten 1 Jahr nach Behandlung eine Rubeosis iridis mit Sekundärglaukom (37). Ein Jahr nach Behandlung war eine Indikation für eine Eukleation aufgrund eines unkontrollierbaren Sekundärglaukoms bei 10% aller behandelten Augen gegeben. Bei den betroffenen Augen handelte es sich jedoch ausschließlich um Ziliarkörpermelanome mit hoher Tumorprominenz. Insgesamt erreichten *Mueller et al.* eine Bulbuserhaltrate von 90%. Vor der Behandlung hatten 63% der behandelten Patienten einen Lesevisus ($>0,3$), 32% einen Orientierungsvisus (Metervisus bis 0,3) und 5% keinen Gebrauchsvisus (weniger als Metervisus). Im ersten Jahr nach Behandlung resultierte bei 19% ein Lesevisus, bei 26% ein Orientierungsvisus und bei 55% kein Gebrauchsvisus.

Cyber Knife

Die Cyber-Knife-Bestrahlung ist die modernste Radiochirurgie. In einer etwa dreistündigen ambulanten Sitzung wird eine Computertomographie durchgeführt, der Behandlungsplan verfasst und anschließend die Behandlung verwirklicht. Photonenstrahler und ein beweglicher Roboterarm (Abbildung 2) mit mehreren Gelenken ermöglichen eine flexible Anpassung an die anatomischen Verhältnisse, die zusätzlich durch 2 orthogonale Röntgen-Bildwandler überprüft werden. Ein Vorteil gegenüber der „geladenen Teilchenbestrahlung“ ist, dass der Kopf des Patienten nicht fixiert ist, sondern sich das Gerät um den Patienten herum bewegt. Eine individuell hergestellte Kopfmaske dient zur Verhinderung der Kopfbewegung. Die vor der Computertomographie (Abbildung 5) verabreichte Retrobulbäranästhesie dient dazu, die Bewegung des Bulbus aufzuheben. Nachuntersuchungen werden in unterschiedlichen Zeitabständen durchgeführt um die Effektivität der Therapie zu überprüfen (Abbildungen 3, 4, 5, 6 und 7). In einer Studie des Cyber-Knife-Zentrums München konnte eine lokale Tumorkontrolle mit Cyber-Knife-Radiochirurgie bei 12 von 13 Patienten erreicht werden (39). Vorteil der Cyber-Knife-Radiochirurgie ist die einmalige Therapiesitzung, der Verzicht auf mehrere Operationen und auf einen Klinikaufenthalt (39).



**Abbildung 2 Behandlung im Cyber-Knife-Zentrum in München
(mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. A. Muacevic)**

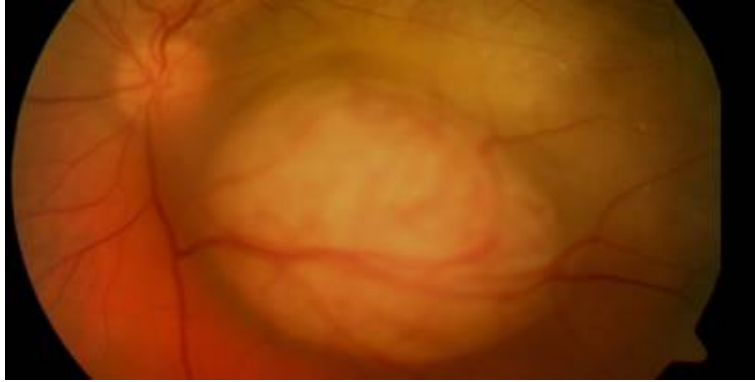


Abbildung 3 Funduskopie eines peripapillär gelegenen Uveamelanoms vor Cyber-Knife-Radiochirurgie (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. A. Muacevic)

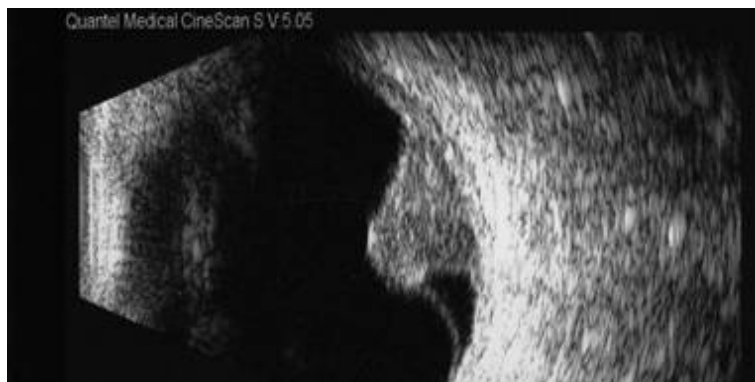


Abbildung 4 Ultraschall-B-Scan vor Cyber-Knife-Radiochirurgiebehandlung (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. A. Muacevic)

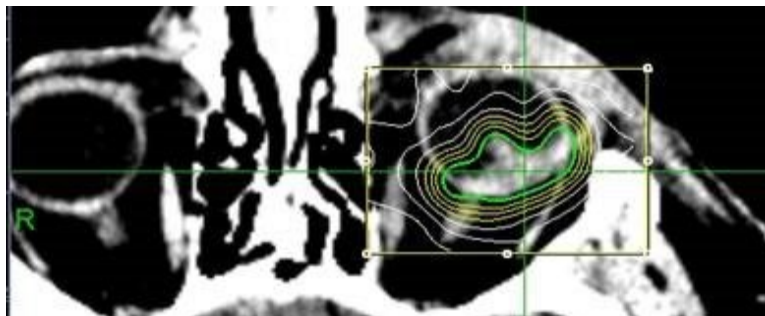


Abbildung 5 CT-Planungsscan der Isodosis für eine Cyber-Knife-Bestrahlung. Die grüne Linie stellt die verabreichte Isodosis (70%) dar (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. A. Muacevic)

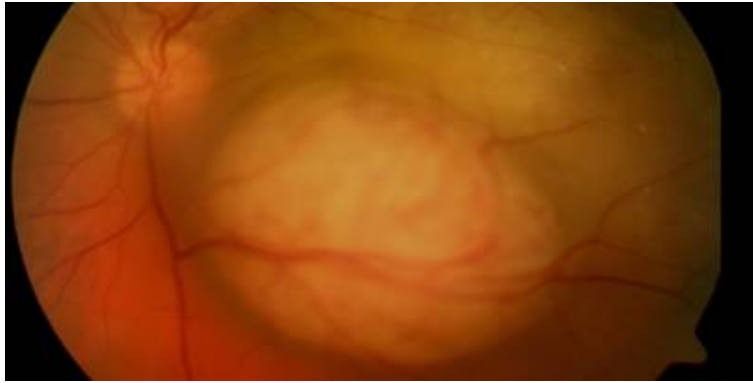


Abbildung 6 Funduskopie eines blässeren peripapillär gelegenen Uveamelanoms 6 Monate nach Cyber-Knife-Radiochirurgie (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. A. Muacevic)



Abbildung 7 Ultraschall-B-Scan Aderhautmelanoms 6 Monate nach Cyber-Knife-Radiochirurgiebehandlung mit deutlicher Grössenabnahme des Tumors (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. A. Muacevic)

Bestrahlungsassoziierte Komplikationen in der Radiochirurgie

Zu den bestrahlungsassoziierten Komplikationen gehören Glaskörperblutung, Netzhautablösung, Visusabfall, Bestrahlungsretinopathie, Tumervaskulopathie, Optikusneuropathie, Makulopathie und Katarakt (40,41). Eine bestrahlungsassoziierte Optikusneuropathie entwickeln 64% aller Patienten, die sich einer radiochirurgischen Behandlung unterziehen (41). Die Bestrahlungskatarakt entsteht bei 53% aller Augen, die mit einer stereotaktischen Radiotherapie behandelt werden (41). Eine signifikante Abnahme des Sehvermögens auf Fingerzählen oder weniger nach stereotaktischer Radiotherapie tritt bei 80% der Patienten auf (41). Diese genannten Komplikationen werden häufiger bei Patienten mit bestrahlungsinduziertem neovaskulärem Glaukom (definiert als intraokulärer Druckanstieg > 21 mmHg und Rubeosis iridis) beobachtet (40). Nach *Krema et al.* lag die Inzidenzrate des neovaskulären Glaukoms nach stereotaktischer Radiotherapie bei 42% (41). Die mediane Dauer bis zum Auftreten des Neovaskularisationosglaukoms betrug 20 Monate (41).

Endoresektion bei Aderhautmelanom

Die Endoresektion ist eine chirurgische Therapieoption bei Aderhautmelanom. Diese ophthalmochirurgische Methode bietet sich insbesondere dann an, wenn eine Enukleation für den Patienten nicht in Frage kommt. Eine adjuvante photodynamische Therapie oder Plaquetherapie im Anschluss an die Endoresektion ist möglich. *Hadden et al.* untersuchten 61 Patienten, die sich für eine Endoresektion bei Aderhautmelanom entschieden (42). Im untersuchten Zeitraum wurden 12 von 61 Augen enukleiert. Gründe für eine Enukleation nach erfolgter Endoresektion waren unter anderem ein lokales Tumorrezidiv, ein blindes und/ oder schmerzhaftes Auge oder eine Endophthalmitis (42). Acht von 12 enukleierten Augen hatten einen Resttumor (42). Rezidivierende oder persistierende Läsionen zeigten meist den gleichen Tumorzelltyp und waren am Rand der chirurgischen Resektion oder innerhalb dieses Bereichs lokalisiert (42). Zu den intraoperativen Risiken gehören eine sklerale Perforation, subretinales- und subchoroidales Öl, Berührung von Linse und Retina (43). Postoperativ kann es zu Netzhautablösung, Katarakt, okulärer Hypertension, Phthisis bulbi, Glaskörperblutung, lokalem Tumorrezidiv und Endophthalmitis kommen (43).

Alternative Therapieoptionen: Transpupilläre Strahlentherapie und intravitreale Bevacizumabtherapie

Die transpupilläre Strahlentherapie wird vor allem bei kleinen Aderhautmelanomen eingesetzt, die nicht eindeutig von Nävi abgegrenzt werden können sowie bei schlechtem Patientenallgemeinzustand.

Diodenlaserstrahlen rufen hyperthermiebedingt einen Zelltod im Tumor hervor. Mehrere einminütige, sich überlagernde Diodenlaserstrahlen werden auf die gesamte Tumoroberfläche abgegeben. Hierzu bedarf es einer Retro- oder Peribulbäranästhesie. Tumorrandständig wird zusätzlich ein 2 Millimeter breiter Streifen der gesunden Aderhaut therapiert. Bei Tumorresten wird die Therapie nach 6 Monaten wiederholt (30).

In einer Studie von *Mashayekhi et al.* lautete die Empfehlung keine transpupilläre Strahlentherapie bei bestehenden „high-risk Tumoreigenschaften“ (unter anderem Symptome, Papillennähe, subretinale Flüssigkeit) von kleinen Aderhautmelanomen durchzuführen (44). Orange Pigment, Tumorrezidiv und eine extraokuläre Ausbreitung des Tumors waren mit einem statistisch signifikanten Risiko für Fernmetastasen assoziiert (44).

Ein choroidales Melanom kann auf untypische Weise in Erscheinung treten. Subretinale Flüssigkeit, juxtapapilläre choroidale Neovaskularisationen, lokalisierte choroidale oder vitreale Hämorrhagien können die definitive Diagnose eines Tumors erschweren. Insbesondere dann, wenn der monoklonale Anti-VEGF-Antikörper Bevacizumab intravitreal zur Reduzierung einer diagnostizierten Flüssigkeit gegeben wird und es zu einer vaskulären Okklusion im Tumor kommt (45).

Enukleation

Eine Enukleation wird bei Patienten durchgeführt mit primär sehr großem Tumor, bei Tumorrezidiv oder bei einem schmerzhaften neovaskulären Glaukom. Die mediane Dauer zwischen Bestrahlung und sekundärer Enukleation betrug bei *Krema et al.* 20,5 Monate (41).

In seltenen Fällen kann auch der Patientenwunsch Enukleationsgrund des Auges sein. Eine Enukleation des erkrankten Auges kann erhebliche Auswirkungen auf die individuelle Lebensqualität haben. Eine erhöhte Morbidität wurde nach Enukleationen beobachtet. Insbesondere, wenn physische oder alltägliche Bedürfnisse unerfüllt bleiben, wirkt sich dies entsprechend mit niedrigen Quality-of-Life- Werten (QoL) und depressiver Symptomatik aus (46).

Prognose bei Aderhautmelanom

Überlebenszeit

Die relative 5-Jahres-Überlebenszeit der Patienten zeigt Unterschiede hinsichtlich der Tumorgröße (COMS-Kriterien): große Tumoren (80,8%), mittelgroße Tumoren (95,1%) und kleine Tumoren (98,3%) (47). Insgesamt haben primär enukleierte Augen signifikant niedrigere relative Überlebenszeiten (80,5%) als mit Brachytherapie behandelte Tumoren (93,6%) (47). In einer Studie von *Kath et al.* betrug die mediane Überlebenszeit 9 Monate nach klinischer Sicherung von (insbesondere Leber-) Metastasen (48). Ungefähr 47% aller Patienten mit großen Aderhautmelanomen entwickelten innerhalb von 5 Jahren Metastasen. Von diesen Patienten verstarben 97% an ihrem Tumorleiden (49).

Metastasen

Das Aderhautmelanom metastasiert hämatogen. Die Leber ist das häufigste Organ, das von einer hämatogenen Tumorzellstreuung betroffen ist. Weitere Metastasierungsorte sind Lunge, Skelett, Lymphknoten und Gehirn (50).

Bei einer mittleren Tumorbasis von 11,3 mm und einer Tumordicke von 5,5 mm metastasierte ein Aderhautmelanom in einer Studie von *Shields et al.* nach 3, 5 und 10 Jahren in jeweils 8%, 15% und 25% der Fälle (51). Bei einem 10-Jahres-Follow-Up wurden Metastasen vor allem bei einer Tumordicke >10 mm in 52% beobachtet (51). Klinische Risikofaktoren für Metastasen beim uvealen Melanom waren eine Tumorlokalisation im Ziliarkörper, eine an Größe zunehmende Tumorbasis und Tumordicke, stark pigmentierte Tumoren, subretinale Flüssigkeit, intraokuläre Hämorrhagien oder eine extraokuläre Tumorausbreitung (51). Ein eher seltener Metastasierungsort des uvealen Melanoms ist die Haut (52). In diesen Fällen hat sich die GNAQ/GNA11- Mutationsanalyse als hilfreiche Methode zur Diagnose unbekannter Hauttumoren bei bekanntem uvealen Melanom etabliert (52).

Genetische Tests

Es stehen unterschiedliche genetische Tests zur klinischen Prognose bei uvealem Melanom zur Verfügung. Abgesehen von den klinischen Charakteristika, und den histopathologischen Markern können individuelle molekulare Biomarker, zytogenetische Marker wie Chromosom-3-Verlust (Monosomie 3), Chromosom-8q-Zunahme oder 8p-Verlust, Chromosom 1p-Verlust und Chromosom-6p-Zunahme im Tumor von prognostischer Relevanz sein (8,53).

Genetische Tests, die zur klinischen Prognoseaussage durchgeführt werden schließen unter anderem eine Karyotypisierung, Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH), komparative genomische Hybridisierung (CGH), Mikrosatellitenanalyse (MSA) und Single-Nukleotid-Polymorphismus-Array (SNP) mit ein. Genetisches Material wird entweder im Rahmen einer Enukleation oder intraoperativ mittels Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB) gewonnen (53). In wenig ausgewählten Zentren, die eine genetische Testung des Tumormaterials anbieten, wird dies von 97% der

Patienten in Anspruch genommen (54). Zum einen empfinden Patienten nach einer genetischen Testung, dass sie ihre Lebenssituation besser kontrollieren können und zum anderen haben Patienten auch bei schlechter Prognose die Hoffnung, dass eine reguläre Kontrolle ihr Gesamtüberleben verbessert (54).

Chromosomenaberration und Genmutation

Ein kompletter oder partieller Verlust von Chromosom 3, 1p, 8p-Verlust oder –8q-Zunahme im Tumor sind mit einer erhöhten Metastasierungsrate assoziiert. Auf 6p-, 6q- und 8p- Zunahme trifft dies nicht zu (8).

GNAQ- und GNA11-Mutationen (Guanine nucleotide binding protein (G-protein), alpha 11) werden in 84% der malignen uvealen Tumoren beobachtet (55). BAP1 (Tumorsuppressorgen auf Chromosom 3p21.31-p21.2) hat kein signifikant erhöhtes Metastasierungsrisiko (55). GNAQ (Guanine nucleotide-binding protein (G-protein) alpha-q) hingegen ist invers mit Metastasen assoziiert (55). EIF1AX-Mutationen (Gen auf Xp22.12, essentieller Translationsinitiationsfaktor) treten ausschließlich bei disomen, nicht metastastischen Tumoren auf (55). Uveale Melanome mit sehr hohen TERT- (Telomerase reverse Transcriptase) Expressionsspiegeln metastasieren meist nicht (55).

Zielsetzung

Ziel der Arbeit war es histologische, immunhistochemische und klinische Ergebnisse nach Ruthenium-106-, Gamma-Knife- und Cyber-Knife-Bestrahlung bei Aderhautmelanom zu untersuchen. Das Hauptaugenmerk galt folgenden Aspekten:

- Patientendaten (Geschlecht, Alter)
- Zeitdauer Erstdiagnose-Bestrahlung-E nukleation
- Postradiogene Komplikationen (Rubeosis iridis, Sekundärglaukom)
- E nukleationsgründe (Rezidiv, kein Therapieansprechen, Sekundärglaukom)
- Histologische und immunhistochemische Parameter bezüglich Tumorzelltyp, Tumoreigenschaften (Pigmentierung, Nekrose, Blutung), Tumorinvasion
- Klinische Parameter (Augeninnendruckerhöhung, sonographische Befunde vor Bestrahlung und E nukleation)
- Unterschiede zwischen den Bestrahlungsarten

Die Evaluation dieser Parameter sollte helfen histologische, immunhistochemische und klinische Prognosefaktoren zu erarbeiten, die allenfalls zu einem Therapieversagen führen könnten.

Material und Methodenteil

Patienten

Geschlecht

Das Geschlecht der Patienten wurde den Patientenakten entnommen und zur statistischen Auswertung mit 2 unterschiedlichen Zahlen (0=männlich und 1=weiblich) verschlüsselt.

Alter

Das mittlere Erkrankungsalter der Patienten bei Erstdiagnose war für diese Studie relevant.

Betroffenes Auge

Rechte und linke erkrankte Augen wurden mit unterschiedlichen Zahlen (0=rechts und 1=links) verschlüsselt.

Erstdiagnose-Bestrahlung-Enukleation

Informationen zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, der Bestrahlung und der Enukleation wurden aus den Patientenakten entnommen und die Zeitspannen zwischen Erstdiagnose und Bestrahlung, sowie Bestrahlung und Enukleation berechnet.

Bestrahlungsart

Die Patienten wurden nach ihrer Bestrahlungsart in 3 Kollektive eingeteilt: Ruthenium-106-Kollektiv, Gamma-Knife-Kollektiv und Cyber-Knife-Kollektiv.

Bestrahlungsdosen

Informationen zu den abgegebenen Bestrahlungsdosen (in Gy) wurden aus den Patientenakten dokumentiert. Im Ruthenium-106-Kollektiv kamen unterschiedliche sich in der Form unterscheidende Applikatoren zum Einsatz: CCB-, CCC-, COB- und COC-Applikatoren. Die abgegebene Dosis (in Gy) an die Tumorspitze und Sklera wurde notiert und statistisch ausgewertet. Im Gamma-Knife- und Cyber-Knife-Kollektiv wurden die Maximaldosen (in Gy), Randdosen (in Gy) und Isodosen (in %) ausgewertet.

Sonographische Befunde

Angaben zur Tumorbasis im transversalen Bild (B-Bild), zur Tumorbasis im longitudinalen Bild (B-Bild) und Tumorprominenz (A-Bild) wurden sowohl bei Erstdiagnose, als auch vor Enukleation aus den Patientenakten retrospektiv ausgewertet. Die Tumorbasis und -prominenz wurde zusätzlich noch nach Enukleation in der makroskopischen Untersuchung des Präparates ausgemessen und mit den sonographischen Befunden verglichen. Informationen zur Reflektivität (A-Bild) des Tumors wurden sowohl bei Erstvorstellung, als auch vor Enukleation dokumentiert und wie folgt (Tabelle 2) retrospektiv beurteilt:

Tabelle 2 Einteilung der Tumorreflektivität

1= 0-5%	Extrem niedrigreflektiv
2= 5-40%	Niedrigreflektiv
3= 40-60%	Mittelreflektiv
4= 60-80%	Mittelhoch-hochreflektiv
5= 80-100%	Hochreflektiv

Klinische Befunde

Visus bei Erstdiagnose und vor Enukleation

Der dokumentierte Snellen-Visus bei Erstvorstellung und vor Enukleation wurde aus den Patientenakten entnommen und in einen logMAR-Wert umgerechnet.

Intraokulärer Druck vor Erstdiagnose und vor Enukleation

Der intraokuläre Druck (in mmHg) wurde ebenfalls bei Erstvorstellung und vor Enukleation aus den Patientenakten entnommen und ausgewertet. Werte über 21 mmHg mit entsprechendem Papillenbefund und pathologisch ausfallender Gesichtsfelduntersuchung wurden als „Glaukom“ definiert und zusätzlich ausgewertet.

Komplikationen

Angaben zu Schmerzen, Rubeosis iridis, Glaskörper-Blutung und Ablatio retinae (Tabelle 3) wurden aus den Patientenakten entnommen und wie folgt beurteilt:

Tabelle 3 Komplikationen

	ja = 1	nein= 0
Schmerzen		
Rubeosis iridis		
Glaskörper-Blutung		
Ablatio retinae		
Andere		

Indikation zur Enukleation

Die Indikation zur Enukleation (Tabelle 4) wurde aus unterschiedlichen Gründen gestellt. Dokumentierte Angaben wurden aus den Patientenakten entnommen und anschließend statistisch ausgewertet.

Tabelle 4 Indikation zur Enukleation

	ja= 1	nein= 0
Rezidiv		
Sekundärglaukom		
Fehlender Therapieerfolg		
Patientenwunsch etc.		

Histologie

Vorbereitung des histologischen Untersuchungsmaterials und Fixierung des Nativmaterials

70 enukleierte Bulbi wurden in 4%- Formaldehyd fixiert. Die entnommenen Augen wurden makroskopisch unter anderem auf Durchleuchtbarkeit des Bulbus und transsklerales Wachstum hin beurteilt und anschließend ein Schnitt durch den Tumor gemacht. In weiterer Folge wurde das Operationsgewebe wie folgt über Nacht über die aufsteigende Alkoholreihe und Xylol ins Paraffin überführt: Einleitend wurde das Operationsgewebe 2 Mal 2 Stunden lang in 70%- Alkohol (Methylethylketon vergällt) gestellt. Danach wurde das Gewebe 2 Mal 1 Stunde lang und danach 2 Stunden lang in 96%- Alkohol (Methylethylketon vergällt) eingelegt. Nach selbigem Prinzip wurde das Material danach 1 Stunde lang in absoluten Alkohol (Petrolether vergällt) gestellt. In weiterer Folge wurde das Gewebe in eine 1:1 absoluter Alkohol: Xylol-Mischung 1 Stunde lang gestellt. Danach wird das Material 2 Mal 1 Stunde lang in Xylol reinst gestellt, um es abschließend 1 Stunde und danach 2 Stunden lang in Paraplast Plus (Art.Nr.: 18393, Plano GmbH) zu legen.

Anschließend wurde das entwässerte Material im Paraffinblock eingebettet und zum Aushärten im Kühlschrank deponiert. Vom Paraffinblock wurden zirka 1,5 – 3 µm dicke Mikrotomschnitte angefertigt. Die Objektträger wurden kurze Zeit bei Raumtemperatur, dann 30 Minuten bei 60°C im Wärmeschrank und zuletzt 30 Minuten bei 30°C im Wärmeschrank aufbewahrt. Die Schnitte wurden vor der Färbung etwa 10 Minuten bei Raumtemperatur abgekühlt.

Färbemethoden

Die enukleierten Bulbi wurden alle nach der HE (Hämatoxylin-Eosin, Romeis, alt §648) und PAS (Perjodsäure-Schiff's-Reagenz, Romeis, alt §1120) – Färbungsmethode gefärbt. Aufgrund teils starker Pigmentierung des Tumorgewebes musste zuvor depigmentiert werden.

HE-Färbemethode (Hämatoxylin-Eosin, Romeis, alt §648)

Einleitend wurde das Gewebe 15 Minuten lang mit Xylol entparaffiniert. Anschließend wurde das Material mit Hilfe der absteigenden Ethanolreihe (vergällt) wie folgt hydriert: Zuerst wurde das Gewebe 15 Minuten lang in 100%- Ethanol gestellt, danach 10 Minuten lang in 96%- Ethanol gelegt und anschließend 3 bis 4 Mal mit 70%- Ethanol gespült. Das Gewebe wurde danach kurz in Aqua dest getaucht, bis die Alkoholschlieren entfernt wurden. Das Präparat wurde danach 10 Minuten lang in saure Hämalaunlösung (n. P. Mayer in Romeis §648) gelegt. Überschüssiges Hämalaun wurde mit 0,75%- HCl (Salzsäure-Alkohol 0,75%) entfernt. Das gefärbte Gewebe wurde unter fließendem Wasser 10 bis 15 Minuten lang gebläut. Anschließend wurde das Material für 1 Minute lang in 2%- Eosinlösung getaucht und danach mit Leitungswasser gespült, um in weiterer Folge nach folgendem Schema dehydriert zu werden: Das Gewebe wurde zur Eosin-Differenzierung mit 70%- Ethanol und danach mit 96%- Ethanol kurz gespült. Danach wurde das Material jeweils 10 Minuten lang in 100%- Ethanol und anschließend in Xylol (3 Küvetten) gestellt. Abschließend wurde das Material mit Malinol (REF: 3C-242 Waldeck) eingedeckt. Nach korrektem Färbevorgang erscheinen die Zellkerne blau und das Bindegewebe rot.

PAS-Färbemethode (Perjodsäure-Schiff's-Reagenz, Romeis, alt §1120)

Die Präparate dieser Studie wurden ebenfalls nach der PAS-Färbemethode gefärbt. Einleitend mussten die Präparate mit Xylol 15 Minuten lang entparaffiniert werden, um anschließend mit der absteigenden Alkoholreihe nach folgendem Prinzip hydriert zu werden: Zuerst wurden die Präparate 15 Minuten lang in absoluten Ethanol und danach 10 Minuten in 96%- Ethanol eingelegt. Danach wurden die Präparate mit 70% Alkohol 3 bis 4 Mal kurz gespült. Anschließend wurden die Präparate kurz mit Aqua dest gespült, um alle Ethanolschlieren zu entfernen. In weiterer Folge wurden die Präparate als einleitenden Schritt des Färbevorgangs für 10 Minuten in 1%- Perjodsäure (Apotheke L0065) eingelegt und danach kurz mit Leitungswasser gespült. Anschließend wurden die Präparate 10 Minuten lang mit Schiffs Reagenz (Fa Merck KGaA 1.09033.0500) behandelt und danach 10 Minuten in Leitungswasser

gewaschen, das mehrmals gewechselt wurde. Danach wurde mit der Hämalaun-Färbung (n. Mayer Apotheke FL0008) 10 Minuten lang gegengefärbt und im Anschluss 10 Minuten lang mit Leitungswasser gebläut. Als letzter Schritt erfolgte die Dehydrierung der Präparate mit der aufsteigenden Alkoholreihe. Zuerst wurden die Präparate 3 bis 4 Mal in 70%- Alkohol eingetaucht und danach mehrmals mit 96%- Alkohol gespült. Anschließend wurden die Präparate 10 Minuten in 100%- Ethanol und danach 10 Minuten in Xylol eingelegt, um abschließend mit Malinol eingedeckt zu werden. In der PAS-Reaktion färben sich Mukopolysaccharide, Glykoproteine, Glykolipide und Polysaccharide pink an.

Depigmentierungsmethode

Aufgrund teils stark pigmentierter Aderhautmelanome, wurde das Gewebe zuvor zusätzlich depigmentiert. Einleitend wurden die Präparate 15 Minuten lang mit Xylol entparaffiniert und anschließend mit der absteigenden Ethanolreihe (vergällt) hydriert. Danach wurden die Präparate kurz mit Aqua dest abgespült und in weiterer Folge 20 Minuten lang in 0,5 %- Ka-Permanganat-Lösung (Apotheke L29) gestellt. Die Präparate wurden danach kurz mit 2%- Oxalsäure abgespült und anschließend für 1 bis 2 Minuten mit 2%- Oxalsäure entfärbt. Danach wurden die Präparate 10 bis 15 Minuten lang in Leitungswasser gewaschen. Abschließend wurden die Präparate mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

PTAH-Färbung (Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin nach Mallory, aus: Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology)

Ein weiteres Augenmerk galt in dieser Studie den Tumorgefäßen. Mit Hilfe der PTAH-Färbung, konnten diese sichtbar gemacht und besser beurteilt werden. Zuerst wurde das Tumormaterial in 10% gepuffertem Formalin fixiert und anschließend mit Hilfe der absteigenden Alkoholreihe, beginnend mit Xylol und mit Aqua dest endend, entparaffiniert. Daraufhin wurden die Schnitte in 0,25%- Kaliumpermanganat (KMnO₄, Apotheke L39) für 10 Minuten eingelegt und anschließend mit Aqua dest abgespült.

In weiterer Folge wurden die Präparate in 5%- Oxalsäure (COOH)₂ (Apotheke L89) für 8 bis 10 Minuten hineingestellt und danach wieder mit Aqua dest abgespült. Im Anschluss wurden die Präparate mindestens 30 Minuten lang unter fließendem Wasser gewaschen. Das Gefäß mit den in die PTAH-Färbung (Hämatoxylin-Wolframposphorsäure) eingelegten Präparaten wurde für 24 Stunden mit einer Folie gut verschlossen und mit Hilfe eines Rüttlers schwach bewegt. Danach wurde die Farbe abgeschüttet und die Präparate kurz in 96%- Ethanol eingetaucht. Anschließend wurden die Schnitte 2 Mal für 10 Minuten in 100%- Ethanol und als vorletzten Schritt 5 Minuten lang in Xylol hineingestellt. Zuletzt wurden die Präparate mit Malinol eingedeckt. Kerne, Fibrin und Mikroglia erscheinen blau, hingegen grob elastische Fibrillen, Muskeln, Kollagen und Knochen rötlich.

Immunhistochemische Färbemethode

Im Rahmen dieser Studie wurden zusätzlich zur konventionellen Histologie immunhistochemische Färbungen durchgeführt. Untersucht wurden die Bulbi mit Antikörpern gegen folgende Antigene: S-100, HMB-45, Melan-A, CD-3, CD-20, CD-68, Ki-67, MITF, CD-31 und Faktor VIII (vergleiche Tabelle 5). Als Positivkontrolle diente angefärbtes positives Patiententumormaterial.

Es wurde nach der LAB/LSAB-Methode gearbeitet. Die Labeled-Streptavidin (Streptomyces avidinii)-Avidin (Hühnereiweiß)-Biotin-Methode beruht auf der vorliegenden Affinität von Avidin zu Biotin, sowie biotinylierten Brückenantikörpern. Das markierte Avidin wird mittels eines daran gebundenen Enzyms (alkalische Phosphatase oder Peroxidase) aufgetragen. Somit stehen 4 freie Bindungsstellen für die biotinylierten Brückenantikörper zur Verfügung.

Die Antikörper Melan-A, CD-3, CD-20, CD-68, Ki-67 und MITF benötigten eine hitzeinduzierte Vorbehandlung von 20 Minuten in einem Puffer mit einem pH von 9. CD-31 und Faktor VIII hingegen brauchten eine hitzeinduzierte Vorbehandlung von 20 Minuten in einem Puffer mit einem pH von 6. S-100 und HMB-45 bedurften keiner Vorbehandlung.

Zur Detektion der Antigen-Antikörper-Bindungen wurde das Kit Dako TMREAL Detection System Alkaline Phosphatase/ RED Rabbit/Mouse von der Firma Dako (Pathology Products Dako Deutschland GmbH, Stresemannstrasse 161, D-22769 Hamburg) verwendet.

Die Tumorschnitte wurden nach folgendem Schema hergestellt: Die Schnitte wurden auf Objektträger (Menzel Gläser Superfrost Plus Thermo Scientific) aufgezogen und getrocknet. Danach wurde das auf die Objektträger aufgezogene Material 15 Minuten lang in Xylol eingelegt und danach 15 Minuten lang in absoluten Alkohol gestellt.

Anschließend wurden die Schnitte ohne Vorbehandlung 10 Minuten lang in 96%-Alkohol gelegt. In weiterer Folge wurde das Material kurz in 70%-Alkohol getaucht, danach kurz mit Aqua Dest abgespült und anschließend in eine Waschpuffer-Gebrauchslösung (500 ml Tris-HCl-Puffer 0,5 mol pH 7,6 mit 2,5 ml Tween 20 Detergent Calbiochem und 4500 ml Aqua dest) gestellt.

Während der Entparaffinierung wurde der Dampfgerat mit Wasser gefüllt und eine Küvette mit EDTA-Puffer (EDTA-Puffer-10-fach-Konzentrat, pH 6 [S1699] sowie pH 9 [S2367], 1:10 verdünnt mit Aqua dest) für 10 Minuten zum Puffer vorwärmen im Dampfgerat erhitzt. Die vorzubehandelnden Schnitte wurden anschließend 20 Minuten im jeweiligen Puffer im Dampfgerat gekocht. Die Küvette wurde aus dem Dampfgerat genommen und zirka 15 Minuten lang abgekühlt. Danach wurden die Schnitte kurz mit Aqua dest gespült und anschließend ebenfalls in die Waschpuffer-Gebrauchslösung (Tween 20 Detergent Calbiochem) überführt. Alle Schnitte wurden 5 Minuten im Puffer (vergleiche Tabelle 5) belassen.

Nun wurden die Schnitte abgeklopft und in eine feuchte Kammer gelegt. Die Primärantikörper wurden mit einer Pipettenspitze, die schräg gehalten wurde, aufgetragen und verteilt. Daraufhin wurden diese für 30 Minuten Raumtemperatur inkubiert. Die Verdünnung der Primärantikörper war für Antikörper, die vorbehandelt und nicht vorbehandelt wurden, gleich.

Anschließend wurden die Schnitte 2 Mal zu 5 Minuten in die Waschpuffer-Gebrauchslösung (Tween 20 Detergent Calbiochem) getaucht. Danach wurden die Schnitte wieder abgeklopft und in die feuchte Kammer gelegt. Der Sekundärantikörper (Biotin-labeled link A) wurde aufgetragen und die Schnitte für 20 Minuten Raumtemperatur inkubiert.

In weiterer Folge wurden die Schnitte erneut 2 Mal für 5 Minuten in die Waschpuffer-Gebrauchslösung (Tween 20 Detergent Calbiochem) getaucht, abgeklopft und in die feuchte Kammer gelegt. Der Streptavidin-Biotin-Komplex (Komplex B APAAP) wurde aufgetragen und anschließend wurden die Schnitte für 20 Minuten Raumtemperatur inkubiert.

Die Schnitte wurden wieder 2 Mal zu 5 Minuten in die Waschpuffer-Gebrauchslösung (Tween 20 Detergent Calbiochem) getaucht. Währenddessen wurde das Farbkomplex-Chromogen hergestellt.

Im Anschluss daran wurden die Schnitte wiederholt abgeklopft und in die feuchte Kammer gelegt. Das hergestellte Chromogen wurde auf die Schnitte aufgetragen und die Schnitte wurden für 10 Minuten inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurde die Färbereaktion mit Aqua dest gestoppt.

Danach wurden die Schnitte mit saurem Hämalun gegengefärbt: dafür wurden die Schnitte in eine Küvette gestellt und 1 Minute gefärbt. Anschließend wurden die Schnitte 3 bis 5 Minuten unter warmem fließendem Wasser gebläut.

Nach Dehydrierung der Präparate mit der aufsteigenden Alkoholreihe wurden die Präparate mit Malinol eingedeckt.

Für die Zwischenschritte zum Waschen wurde der Tris-HCl-Puffer mit einem pH von 7,6 und als Negativkontrolle ein Antikörper-Verdünnungsmedium verwendet.

Tabelle 5 Antikörperspezifität, Verdünnung und Hersteller

Antikörper	Spezifität	Verdünnung	Hersteller
S-100	Melanozytäre Zellen	1: 10 000	Dako
HMB-45	Melanozyten	1: 50	Dako
Melan-A	Melanozyten	1: 100	Dako
MITF	Melanozyten	1: 100	Dako
CD-3	T-Lymphozyten	1: 100	Dako
CD-20	B-Lymphozyten	1: 800	Dako
CD-68	Makrophagen	1: 100	Dako
Ki-67	Proliferationsfaktor	1: 100	Dako

Beurteilung histologischer und immunhistochemischer Parameter der nach Bestrahlung enukleierten Bulbi mit Aderhautmelanom durch zwei unabhängige Personen

Tumoralage

Zur genaueren Auswertung der Tumoralage wurde der Bulbus in 5 Abschnitte eingeteilt und wie folgt beurteilt:

- Iris
- Trabekelmaschenwerk
- Ziliarkörper
- Ora serrata-Äquator
- Äquator-Papille

Zelltyp

Unterschieden wurde zwischen 3 Zelltypen des uvealen Melanoms:

- Spindelzelliger Tumortyp
- Gemischtzelliger Tumortyp
- Epitheloidzelliger Tumortyp

Mitosen

Zur Bestimmung der Mitoserate wurden alle Mitosen in 10-High-Power-Fields bei zwanzigfacher Vergrößerung gezählt und anschließend ausgewertet. Unterschieden wurde zwischen „0“, „1“ und „2 oder mehr als 2“ Mitosen in 10 High-Power-Fields.

Ballonzellen

Die Tumoren wurden auch auf Ballonzellen hin untersucht. Mit Hilfe eines einfachen Schemas wurden die Ergebnisse anschließend ausgewertet: „0= keine Ballonzellen“ und „1= Ballonzellen“ vorhanden.

Immunhistochemische Reaktion, Tumorgefäße und Tumorpigmentierung

Die Farbreaktion der immunhistochemischen Färbung, die Beurteilung der Tumorgefäße, sowie die Tumorpigmentierung wurden nach den unten stehenden Schemata (Tabelle 6) semiquantitativ beurteilt:

- Negativ
- + leicht positiver Befund
- ++ mäßig positiver Befund
- +++ stark positiver Befund

Tabelle 6 Antikörperreaktion

<i>Antikörper- reaktion</i>	Negativ	+	++	+++
S-100				
HMB-45				
Melan-A				
MITF				
CD-3				
CD-20				
CD-68				
Ki-67				
Anzahl der Tumorgefäße				
Tumor- pigmentierung				

Die untersuchten Tumorgefäße (Tabelle 7) wurden im Anschluss auch auf ihren Thrombosierungsgrad hin untersucht:

Tabelle 7 Tumorgefäße

<i>Tumorgefäße</i>	1= 1-24%	2= 25-49%	3= 50-74%	4= 75-100%
Thrombosierung				

Tumurvitalität und Tumorregression

Die Vitalität des Tumors wurde mit Hilfe eines tabellarischen Schemas (Tabelle 8) beurteilt:

Tabelle 8 Tumurvitalität

<i>Vitalität in %</i>	Ja	Nein
1= 0-24%		
2= 25-49%		
3= 50-74%		
4= 75-99%		
5= gesamter Tumor		

Die Tumorregression (Tabelle 9) wurde wie folgt bestimmt:

Tabelle 9 Tumorregression

<i>Tumorregression</i>	Ja	nein
1= prominent und vital		
2= flach und vital		
3= prominent und nicht vital		

Tumornekrose

Nekrotische Anteile des Tumors waren unter anderem zur Beobachtung des Therapieerfolgs relevant. Die Tumornekrose (Tabelle 10) wurde mit Hilfe des folgenden Schemas bestimmt und ausgewertet:

Tabelle 10 Tumornekrose

<i>Tumornekrose in %</i>	Ja	nein
0= keine		
1= < 10 %		
2= 10-50 %		
3= > 50 %		

Tumorblutung

Blutungen im Tumor wurden wie folgt beurteilt:

- 0= keine Blutung
- 1= fokale Blutung
- 2= diffuse Blutung

Beurteilung einer

- Rubeosis iridis
- Tumorinfiltration in den Glaskörper
- Durchbruch durch die Bruch-Membran
- Tumorinfiltration in die Netzhaut
- Ablatio retinae

Das Vorhandensein eines der aufgeführten Tumoreigenschaften wurde mit „1“ bewertet, ein Nicht-Vorhandensein mit „0“.

Tumordinfiltration in die Sklera

Bei der Tumordinfiltration in die Sklera (Tabelle 11) wurde in dieser Studie zwischen einer Infiltration in die inneren skleralen Schichten, in die gesamte Sklera und einem extraskleralen Wachstum unterschieden.

Tabelle 11 Tumordinfiltration in die Sklera

Sklerale Infiltration	1= ja	0= nein
Innere sklerale Schichten		
Gesamte Sklera		
Extrasklerales Wachstum		

Tumordinfiltration in den Nervus opticus

In dieser Studie wurde zwischen einer Invasion der Tumorzellen in den Nervus opticus, einer Ausbreitung des Tumors vor die Lamina cribrosa und über die Lamina cribrosa hinaus (Tabelle 12) unterschieden.

Tabelle 12 Tumordinfiltration in den Nervus opticus

Invasion in den N. II	1= ja	0= nein
in den Nervus opticus		
vor die Lamina cribrosa		
über die Lamina cribrosa hinaus		

Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung wurde das Statistik-Programm SPSS Statistics19 verwendet. Die Daten wurden mit dem zweiseitigen exakten Test nach Fisher und dem Kruskal-Wallis-Test analysiert. Ein p-Wert kleiner oder gleich 5% wurde als statistische Signifikanz definiert.

Ergebnisse

Patienten

Geschlecht

Die Patienten waren bezüglich des Geschlechts nahezu gleich verteilt (männlich: 51,4%, weiblich: 48,6%).

Alter

Das mittlere Patientenalter lag bei Erstdiagnose bei 59,3 und bei Enukleation bei 62,2 Jahren. Die Altersspanne betrug 38 bis 84 Jahre. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den 3 Kollektiven ($p=0,26$).

Betroffenes Auge

In 62,9% der Fälle war das rechte Auge und in 37,1% das linke Auge betroffen.

Zeitdauer zwischen Erstdiagnose, Bestrahlung und Enukleation

Die Dauer zwischen Erstdiagnose und Behandlung betrug im Mittel 6,64 Monate. Die Zeitspanne lag zwischen 0 und 91 Monaten. Es gab keinen signifikanten Unterschied in der Dauer zwischen Erstdiagnose und Behandlung zwischen den drei Kollektiven ($p=0,98$).

Im Mittel vergingen 39,1 Monate von der Bestrahlung bis zur Enukleation. Die Zeitspanne belief sich auf 1 bis 193 Monate. Eine signifikante Differenz in der Zeitdauer zwischen Behandlung und Enukleation liess sich zwischen den 3 Kollektiven nicht beobachten ($p=0,8$).

Bestrahlungsart

30 Patienten (42,9%) wurden mit Ruthenium-106 bestrahlt, 28 (40%) mit Gamma-Knife und 12 (17,1%) mit Cyber-Knife.

Bestrahlungsdosen

Patienten aus dem Ruthenium-106-Kollektiv wurden mit unterschiedlichen Applikatoren bestrahlt: Drei Patienten (11,1%) wurden mit CCB-, 8 Patienten (29,6%) mit CCC-, 11 Patienten (40,7%) mit COB- und 5 Patienten (18,5%) mit COC-Applikatoren bestrahlt. Im Mittel wurden 80,1 Gy (Minimum: 56,7 Gy und Maximum: 103,5 Gy) an die Tumorspitze abgegeben. Die Sklera wurde im Mittel mit 968,9 Gy (Minimum: 690,8 Gy und Maximum: 1247 Gy). Im Gamma-Knife- und Cyber-Knife-Kollektiv lagen die abgegebenen Maximaldosen im Mittel bei 38,3 Gy (Minimum: 29,5 und Maximum: 47,1 Gy). Die Randdosen waren im Mittel 21,7 Gy (Minimum: 16,8 Gy und Maximum: 26,6 Gy) und die Isodosen waren im Mittel 57,6% (Minimum: 45,8% und Maximum: 69,4%). Es gab keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Bestrahlungsdosis zwischen dem Gamma-Knife- und Cyber-Knife-Kollektiv.

Sonographische Befunde

Die mittlere Tumorbasis im transversalen Schnitt war bei Diagnosestellung 11,95 mm (Minimum: 9,35 mm und Maximum: 14,55 mm) und im longitudinalen Schnitt 12,81 mm (Minimum: 10,11 und Maximum: 15,51 mm). Vor Enukleation lagen die Werte der mittleren Tumorbasis transversal und longitudinal bei 12,21 mm (Minimum: 9,15 mm und Maximum: 15,27 mm) und 12,41 mm (Minimum: 8,89 mm und Maximum: 15,93 mm). Nach Enukleation wurden die Tumoren makroskopisch ausgemessen und konnten aufgrund ähnlicher Tumorgroße in den 3 Kollektiven gut miteinander verglichen werden. Die mittlere Tumorprominenz war im Ruthenium-106-Kollektiv 11,6 mm (Minimum: 4 mm und Maximum: 28 mm), im Gamma-Knife-Kollektiv 15,4 mm (Minimum: 8 mm und Maximum: 34 mm) und im Cyber-Knife-Kollektiv 12,65 mm (Minimum: 5 mm und Maximum: 18 mm).

Es lagen statistisch keine signifikanten Unterschiede zwischen den 3 Bestrahlungsarten vor ($p=0,346$). Die mittlere Tumorbasis betrug in der Ruthenium-106-Gruppe 6,3 mm (Minimum: 1,5 mm und Maximum: 16 mm), in der Gamma-Knife-Gruppe 6,35 (Minimum: 3,5 mm und Maximum: 14 mm) und in der Cyber-Knife-Gruppe 8,15 mm (Minimum: 2 mm und Maximum: 17 mm) und es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den 3 Kollektiven ($p=0,1306$).

Die Tumorbasis wurde auch histologisch gemessen und lag im Mittel bei 13,43 mm (Minimum: 8,15 mm und Maximum: 18,71 mm). Die sonographisch erfassten Werte der Tumorbasis vor Eukleation korrelierten signifikant mit den histologisch gemessenen Werten der Tumorbasis ($p=0,037$).

Die mittlere mit Ultraschall ausgemessene Tumorprominenz war bei Diagnosestellung 6,11 mm (Minimum: 3,85 mm und Maximum: 8,37 mm) und vor Eukleation 6,17 mm (Minimum: 3,76 mm und Maximum: 8,58 mm). Der mittlere ausgemessene Wert der Tumorprominenz war im Rahmen der histologischen Aufarbeitung 6,61 mm (Minimum: 3,22 mm und Maximum: 10 mm).

Klinische Befunde

Visus bei Erstdiagnose und vor Eukleation

Im Vergleich zwischen den 3 Kollektiven konnte eine Tendenz zur häufigeren Abnahme des Visus von der Diagnosestellung bis zur Eukleation im Gamma-Knife-Kollektiv beobachtet werden ($p=0,06$). Im direkten Vergleich mit Ruthenium-106-bestrahlten Augen war der Visusabfall vor Eukleation im Gamma-Knife-Kollektiv signifikant ($p=0,032$).

Intraokulärer Druck bei Erstdiagnose und vor Eukleation

Bei 50% aller Patienten lag klinisch ein manifestes Glaukom vor. Bei Diagnosestellung konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den 3 Kollektiven bezüglich des intraokulären Drucks festgestellt werden ($p=0,743$). Vor Eukleation der bestrahlten Augen war der Augeninnendruck im Cyber-Knife-Kollektiv signifikant höher verglichen

mit den beiden anderen Kollektiven ($p=0,002$). Ein Augeninnendruckanstieg (>21 mmHg) fand sich signifikant häufiger im Gamma-Knife-Kollektiv im Vergleich mit den beiden anderen Bestrahlungsgruppen ($p=0,018$). Im Vergleich zum Ruthenium-106-Kollektiv traten Glaukome signifikant häufiger sowohl im Gamma-Knife- ($p=0,027$) als auch im Cyber-Knife-Kollektiv ($p=0,028$) auf.

Schmerzen

Über Bulbusschmerzen als Komplikation klagten 14 von 48 Patienten (29,2%). Ein signifikant häufigeres Auftreten von Schmerzen wurde im Vergleich der 3 Kollektive nicht beobachtet ($p=0,170$).

Komplikationen

Rubeosis iridis

Zehn von 47 Patienten (21%) zeigten klinisch eine Rubeosis iridis. Verglichen zwischen den 3 Kollektiven gab es keine Signifikanz in Hinblick auf ein häufigeres Auftreten in einem Kollektiv ($p=0,504$).

Glaskörperblutung

In 24,3% der Fälle wurden Glaskörperblutungen diagnostiziert, jedoch gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den 3 Kollektiven ($p=0,154$).

Ablatio retinae

Eine klinisch beobachtete Netzhautablösung wurde bei 40 von 47 Patienten (85,1%) festgestellt. Signifikante Unterschiede zwischen den 3 Kollektiven wurden nicht gesehen ($p=0,841$).

Klinische Indikation zur Enukleation

Die klinische Indikation zur Enukleation wurde in 54,7% der Fälle aufgrund eines Rezidivs gestellt. Rezidive führten tendenziell häufiger zu Enukleationen im Ruthenium-106-Kollektiv im Vergleich mit Cyber-Knife-bestrahlten Augen ($p=0,069$). Sekundärglaukome führten bei 25 von 64 Patienten (39%) zur Enukleation. Im direkten Vergleich zwischen der Ruthenium-106-Bestrahlungsart und Gamma-Knife-Gruppe, sowie zwischen der Ruthenium-106-Gruppe und Cyber-Knife-Bestrahlungsart führten Sekundärglaukome sowohl im Gamma-Knife- ($p=0,004$) als auch im Cyber-Knife-Kollektiv ($p=0,038$) signifikant häufiger zu Enukleationen. Andere Gründe (beispielsweise Patientenwunsch), die zu einer Enukleation führten, wurden bei 4 von 64 Patienten (6,3%) klinisch dokumentiert.



Abbildung 8 Klinische Indikation zur Enukleation

Histologische Parameter

Tumorage

Der Tumor lag in 85,6% der Fälle im hinteren Augenabschnitt (Äquator-Papille). Im Cyber-Knife-Kollektiv zeigte sich ein Trend für eine gehäufte Tumorage in der Iris verglichen mit den beiden anderen Kollektiven ($p=0,091$).

Zelltyp

In 55,7% der enukleierten Augen wurden Aderhautmelanome vom „spindelzelligen Typ“ diagnostiziert. Der Anteil an „gemischtzelligen“ Aderhautmelanomen lag bei 31,4%. „Epitheloidzellige“ Tumore machten mit 11,4% den kleinsten Anteil aus. Signifikante Unterschiede hinsichtlich eines häufigeren Auftretens eines bestimmten Zelltyps ließen sich zwischen den 3 Kollektiven nicht bestimmen ($p=0,119$). In der Gamma-Knife-Gruppe waren gemischtzellige und epitheloidzellige Tumortypen signifikant mit einer Invasion in den Nervus opticus assoziiert ($p=0,04$). Eine Korrelation des Zelltyps mit einem extraskleralen Wachstum lag nicht vor ($p=0,291$).

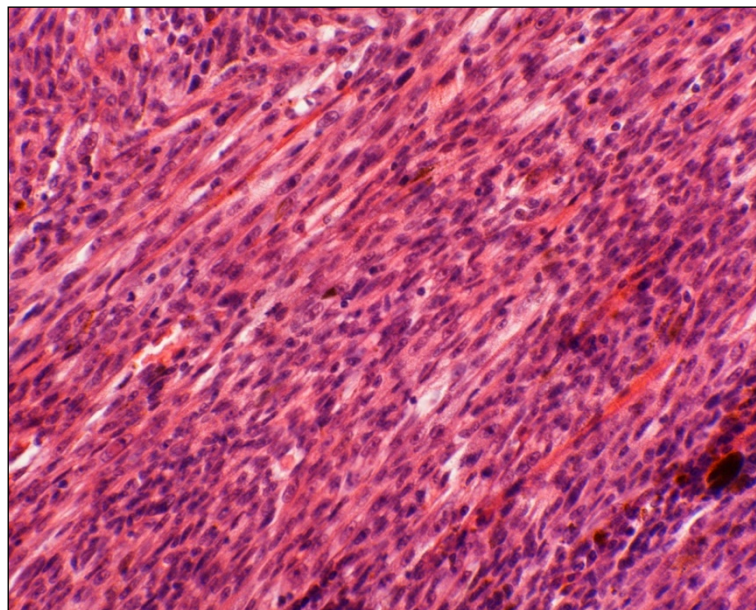


Abbildung 9 Aderhautmelanom vom spindelzelligen Tumortyp, HE, 40x

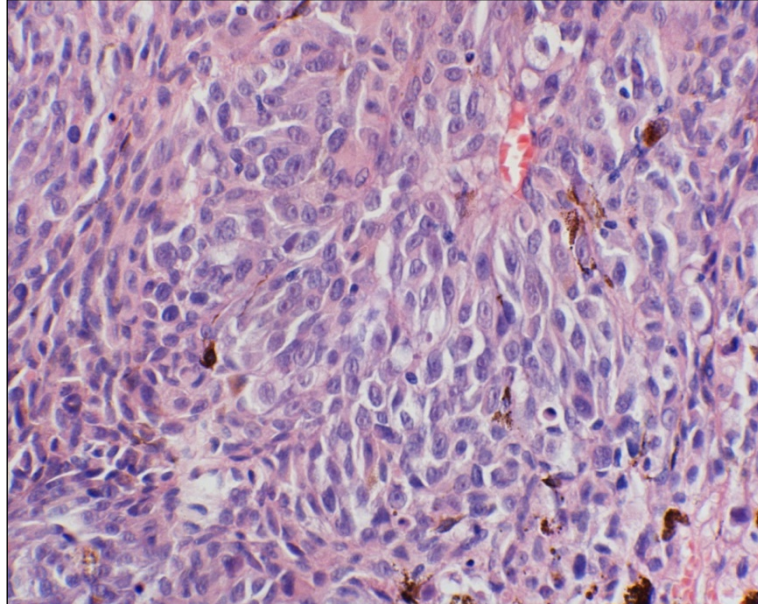


Abbildung 10 Aderhautmelanom vom epitheloidzelligen Tumortyp, HE, 40x

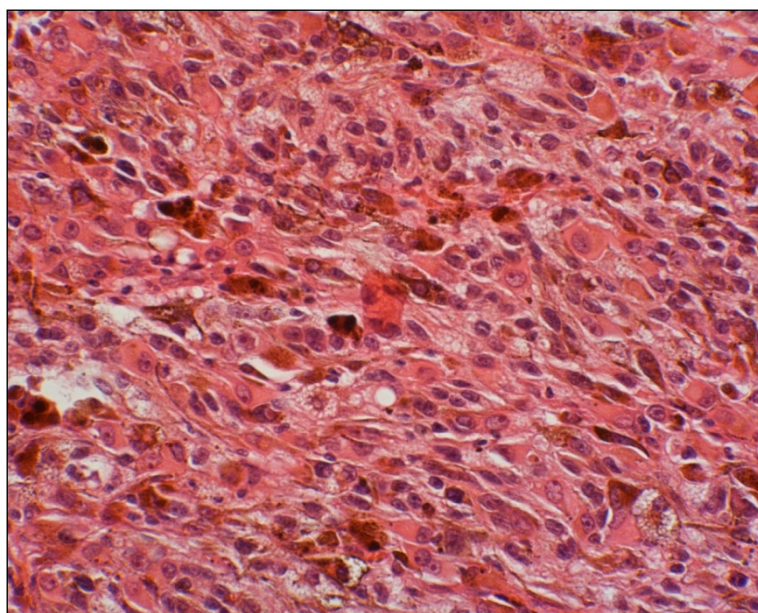


Abbildung 11 Aderhautmelanom vom gemischtzelligen Tumortyp, HE, 40x

Mitosen

Keine Mitosen hatten 57,1% der enukleierten Augen, 28,6% zeigten eine Mitose und 14,3% 2 oder mehr Mitosen in zehn High-Power-Fields. Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den 3 Kollektiven festgestellt ($p=0,532$).

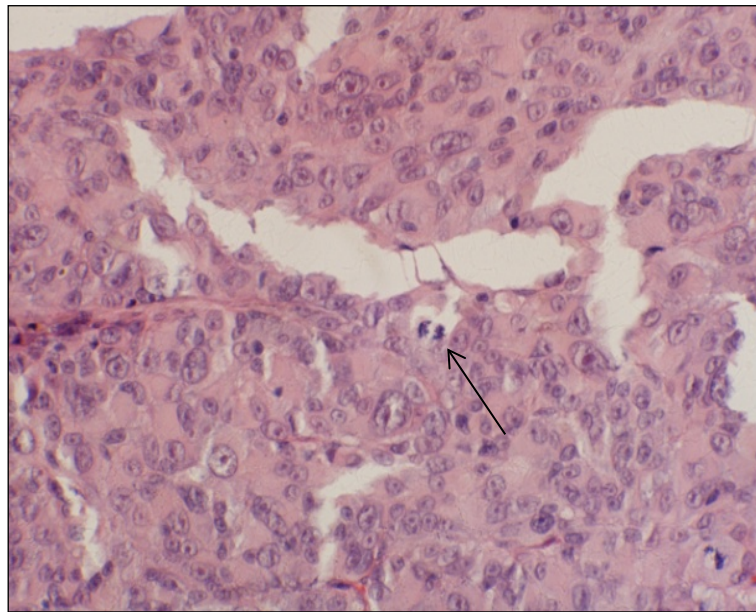


Abbildung 12 Mitose (Pfeil), HE, 40x

Ballonzellen

Ballonzellen wurden in 54,3% der Fälle beobachtet. Eine signifikante Häufung war im Vergleich zwischen den 3 Kollektiven nicht zu beobachten ($p=1,0$).

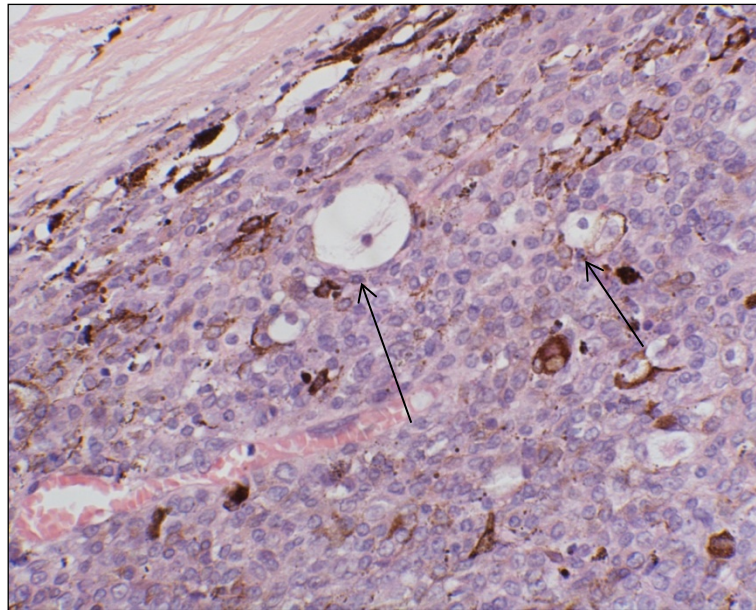


Abbildung 13 Ballonzellen (Pfeile), HE, 40x

Immunhistochemische Marker

Tabelle 13 Antikörperfärbereaktion aller untersuchten Aderhautmelanome

Antikörper	negativ	leicht +	mässig ++	stark +++
S-100	44	19	2	1
HMB-45	11	11	18	26
Melan-A	10	10	16	30
MITF	18	16	23	9
CD-3	4	18	36	8
CD-20	37	19	6	4
CD-68	5	6	42	13
Ki-67	29	18	17	2

S-100

In 66,7% der Fälle zeigten die untersuchten Präparate ein negatives S-100-Färbeverhalten. Bei 19 von 66 Tumoren (28,8%) ließ sich eine dezente Anfärbung mit S-100 feststellen. Eine „moderate bis starke Färbereaktion“ mit S-100 wurde in 4,5% der Fälle beobachtet. Signifikante Unterschiede zwischen den 3 Kollektiven konnten nicht ermittelt werden ($p=0,916$).

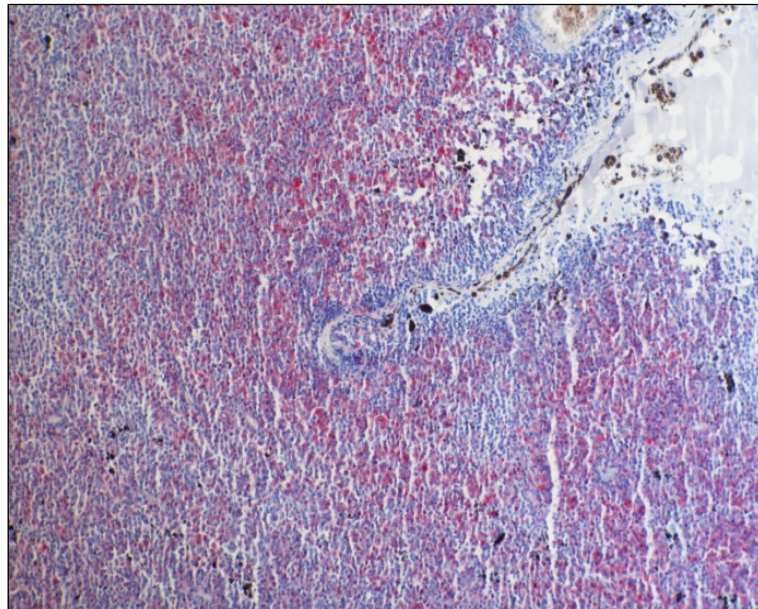


Abbildung 14 S-100 moderate moderate Färbereaktion nach Gamma-Knife-Bestrahlung, 10x

HMB-45

Der Marker HMB-45 war in 83,3% der Fälle positiv. Ein „moderat bis stark positives“ Färbeverhalten zeigte sich bei 66,7% der Präparate. Signifikante Unterschiede wurden zwischen den 3 Kollektiven nicht beobachtet ($p=0,077$)

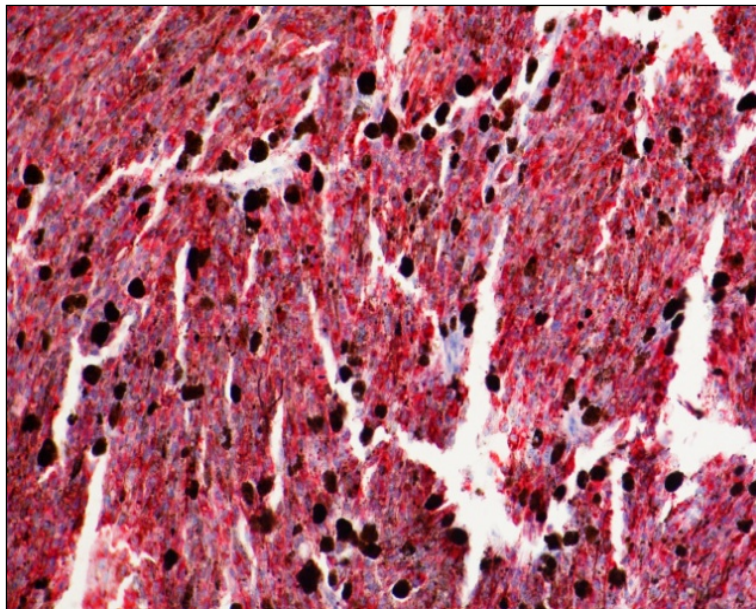


Abbildung 15 Stark positive HMB-45-Färbereaktion nach Gamma-Knife-Bestrahlung, 20x

Melan-A

Der melanozytäre Marker Melan-A zeigte in 69,7% der Fälle eine „moderat bis stark positive“ Färbereaktion. „Stark positiv angefärbte“ Präparate kamen mit einer Häufigkeit von 45,5% vor. Im Vergleich zwischen den 3 Bestrahlungsgruppen konnte keine signifikante Differenz beobachtet werden ($p=0,927$).

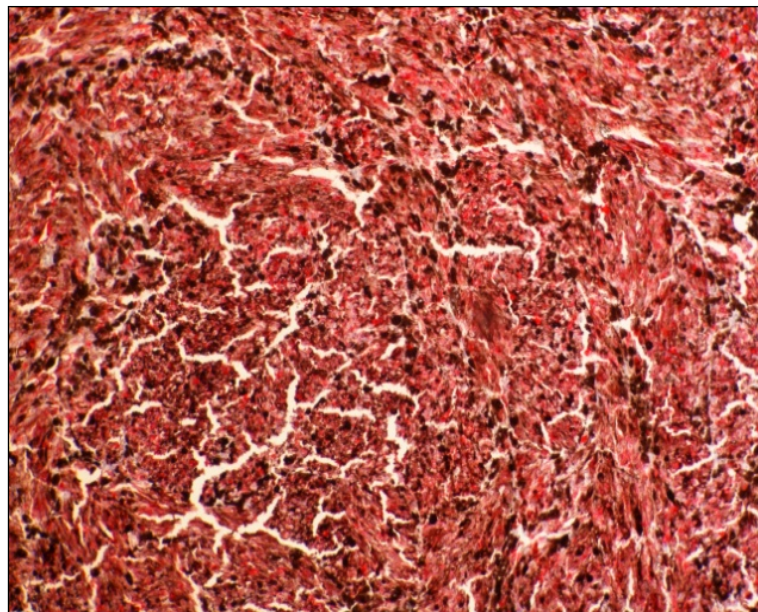


Abbildung 16 Starke Melan-A-Färbereaktion nach Cyber-Knife-Bestrahlung, 10x

MITF

Der melanozytäre Marker MITF zeigte in 72,7% der Fälle eine positive Färbereaktion. Es lag kein signifikanter Unterschied bezüglich des Färbeverhaltens zwischen den Gruppen vor ($p=0,353$).

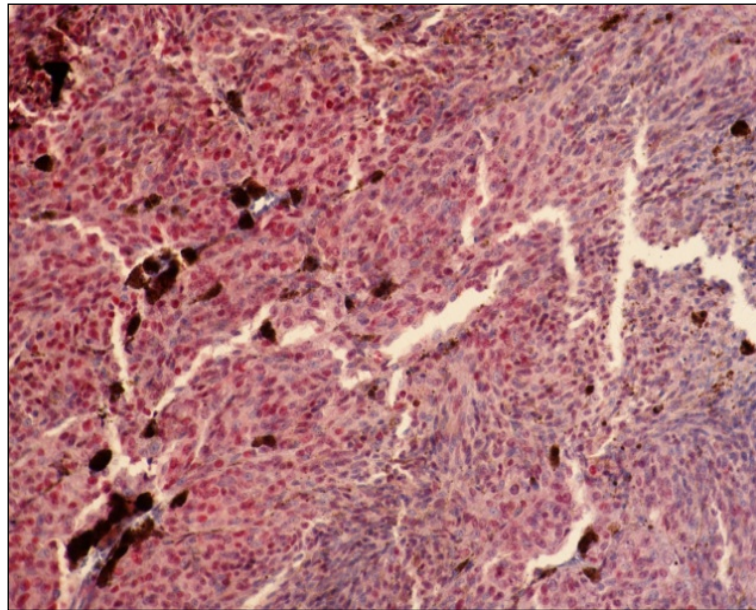


Abbildung 17 Moderate MITF-Färbereaktion nach Cyber-Knife-Bestrahlung, 20x

Entzündungszellen

Vereinzelte Entzündungszellen wurden histologisch in 42 von 70 (60%) Tumoren gesehen. Massive Entzündungszellinfiltrate hingegen machten den kleinsten Anteil mit 4,3% aus. Zwischen den 3 Kollektiven gab es in Bezug auf das histologisch diagnostizierte entzündliche Infiltrat keinen statistischen Unterschied ($p=0,995$). Eine Korrelation der 3 immunhistochemischen Entzündungsmarker (CD-3, CD-20 und CD-68) führte zu einem signifikant gehäuftem gemeinsamen Auftreten folgender Entzündungsmarker: CD-3 und CD-20 ($P=0,017$), CD-20 und CD-68 ($P=0,046$) und CD-20 und CD-68 ($p=0,029$).

CD-3-positive T-Lymphozyten

Ein „leicht bis moderat“ CD-3-positives Färbeverhalten zeigten 81,8% der Aderhautmelanome. Bei 54,5% der Präparate wurde ein „moderat“ CD-3-positives Färbeverhalten und bei 66,7% ein „moderat bis stark“ CD-3-positives Färbeverhalten gesehen. Vier Aderhautmelanome waren CD-3-negativ. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den 3 Bestrahlungsarten bestand nicht ($p=0,169$).

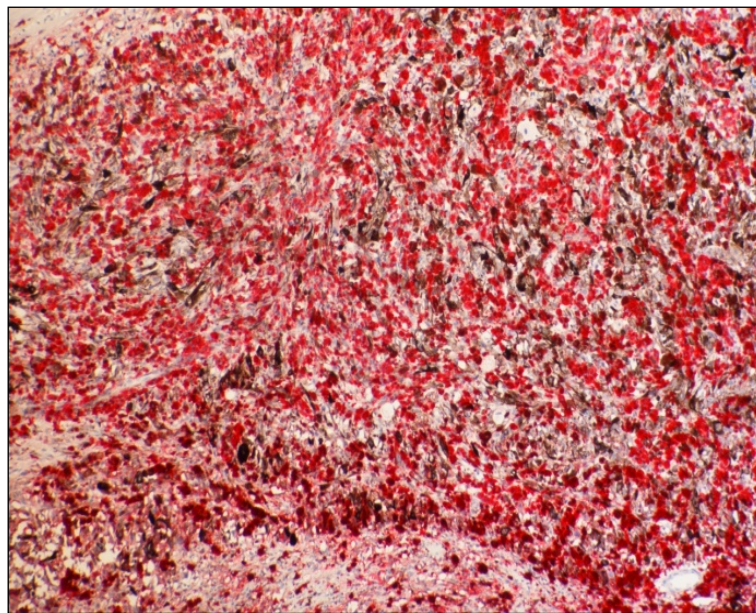


Abbildung 18 Stark positive CD-3-Färbereaktion nach Ruthenium-106-Bestrahlung, 10x

CD-20-positive B-Lymphozyten

19 von 66 Präparaten (28,8%) zeigten ein „leicht“ positives Färbeverhalten. Der Anteil jener Tumore, bei denen ein „moderat bis stark“ CD-20-positives Färbeverhalten gesehen wurde, lag bei 15,2%. Signifikante Unterschiede konnten zwischen den 3 Kollektiven nicht ermittelt werden ($p=0,218$). CD-20-positive B-Lymphozyten waren tendenziell häufiger nach Cyber-Knife-Bestrahlung als nach Gamma-Knife-Bestrahlung zu sehen ($p=0,064$).

CD-68-positive Makrophagen/ Melanophagen

Eine „moderat bis stark“ positive CD-68-Färbereaktion wurde bei 83,3% der Aderhautmelanome gesehen. Bei 7,6% hingegen konnte kein CD-68-positives Färbeverhalten festgestellt werden. Signifikante Unterschiede zwischen den 3 Kollektiven lagen nicht vor ($p=0,102$).

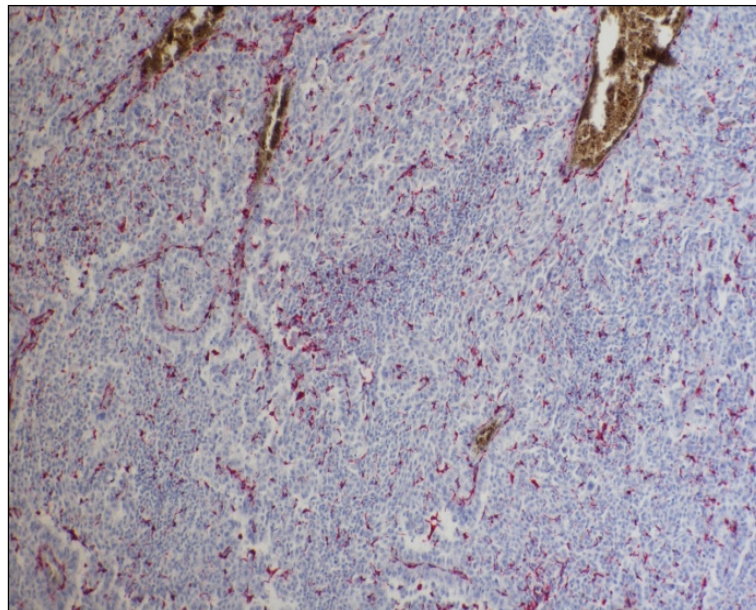


Abbildung 19 Moderat CD-68-angefärbte Makrophagen nach Gamma-Knife-Bestrahlung, 10x

Ki-67

Der Proliferationsmarker Ki-67 war bei 19 von 66 Tumoren (28,8%) „moderat bis stark“ positiv. Keine proliferierenden Ki67-positiven Zellen zeigten 43,9% der Präparate. Ein statistischer Unterschied ließ sich zwischen den 3 Kollektiven nicht beobachten ($p=0,848$).

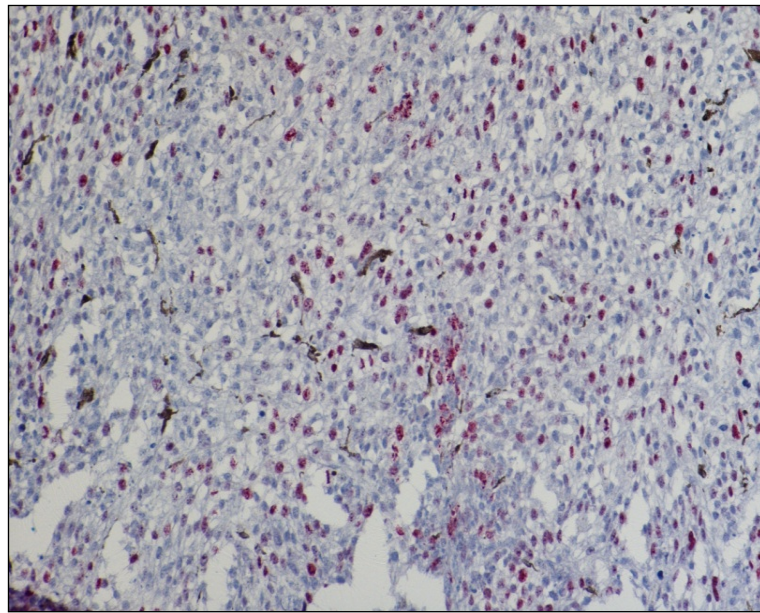


Abbildung 20 Moderate Ki-67-positive Färbereaktion nach Gamma-Knife-Bestrahlung, 10x

Anzahl der Tumorgefäße

Bis auf 2 Tumore waren in sämtlichen Präparaten Tumorgefäße erkennbar (Tabelle 13). „Wenige“ Tumorgefäße wurden bei 55,9% und „moderat bis viele“ bei 41,2% der Aderhautmelanome diagnostiziert.

Tabelle 14 Anzahl der Tumorgefäße

Gefäßanzahl	keine	wenig	moderat	viele
Ru-106	0	18	7	3
Gamma-Knife	2	16	7	3
Cyber-Knife	0	4	7	1

Anzahl der thrombosierten Tumorgefäße

87% der vorliegenden Tumorgefäße waren thrombosiert. Bei 40,6% der Tumore waren mehr als 50% der Tumorgefäße thrombosiert (Tabelle 14). Die statistische Analyse gab keinen Hinweis auf einen signifikanten Unterschied zwischen den 3 Kollektiven ($p=0,730$).

Tabelle 15 Anzahl der thrombosierten Tumorgefäße

Thrombose der Tumorgefäße	Keine thrombosierten Gefäße	1-24 %	25-49 %	50-74 %	75-100 %
Ru-106	5	7	7	5	5
Gamma-Knife	4	4	8	8	4
Cyber-Knife	0	2	4	2	4

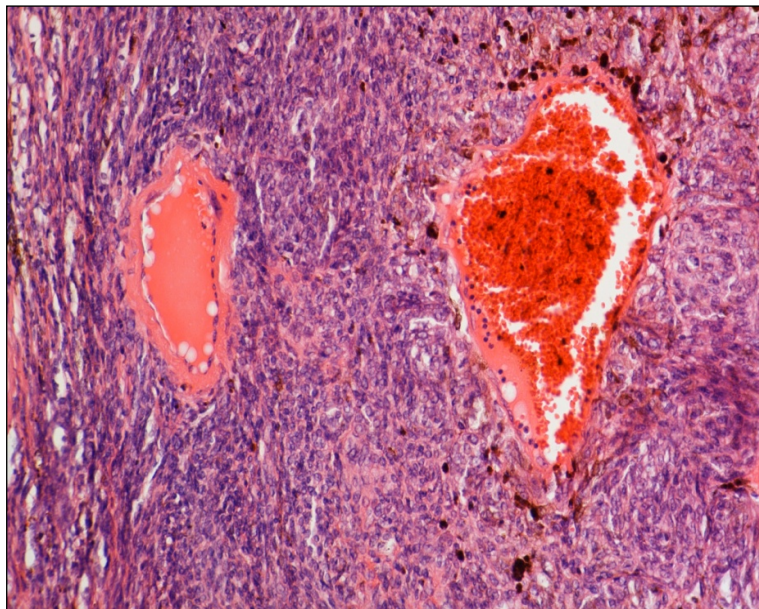


Abbildung 21 Tumorgefäße, HE, 20x

Tumorpigmentierung

In 45,7% der Fälle waren die Tumoren stark pigmentiert und 1,5% amelanotisch. Hinsichtlich der Tumorpigmentierung waren keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zwischen den 3 Kollektiven zu beobachten ($p = 0,782$).

Tumorvitalität

Eine Tumorvitalität von „75-99%“ wurde in 42,9% der Fälle beobachtet. 90% der Tumore wurden histologisch als „prominent und vital“, 5,7% als „flach und vital“ und 4,3% als „prominent und nicht vital“ definiert.

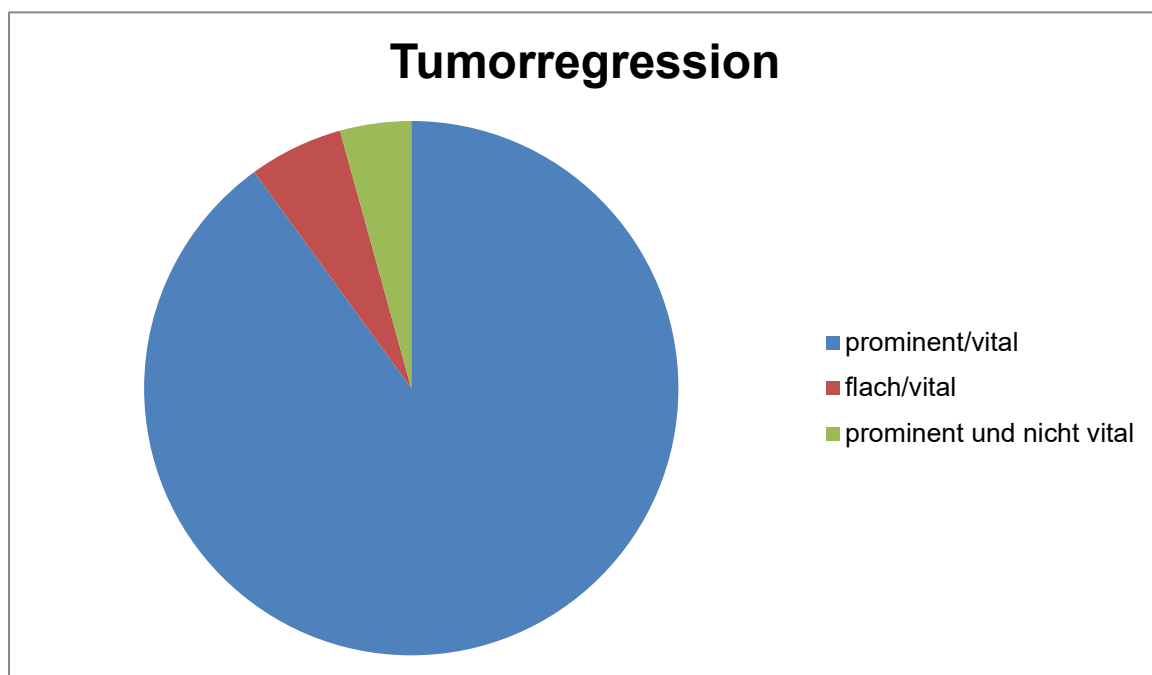


Abbildung 22 Tumorregression

Tumornekrose

Eine unterschiedlich stark ausgeprägte Tumornekrose (Abbildung 23, 24 und 25) zeigte sich in allen Bestrahlungsgruppen. Bei 22,9% der enukleierten Augen wurde „keine“ Nekrose festgestellt. Nekrotische Anteile zwischen „10 und 50%“ zeigten 35,7% der Tumore. Signifikante Unterschiede in Hinblick auf die Tumornekrose konnten zwischen den drei Kollektiven nicht ermittelt werden ($p = 0,410$).

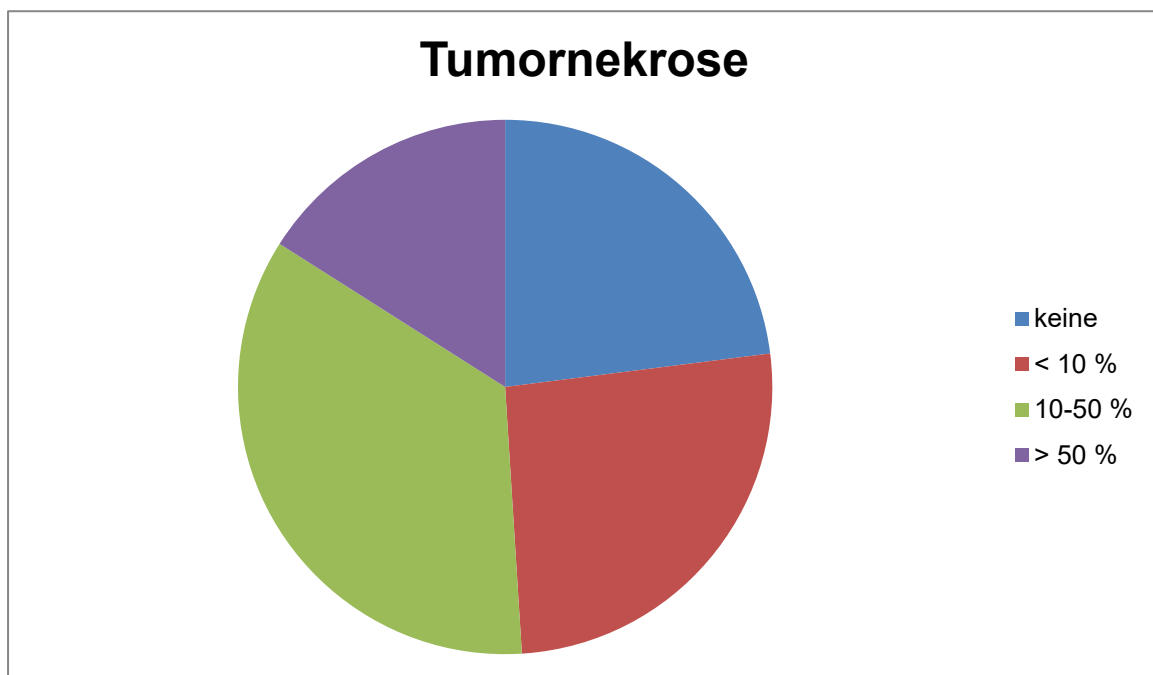


Abbildung 23 Tumornekrose



Abbildung 24 Tumornekrose (Pfeil), HE, 20x

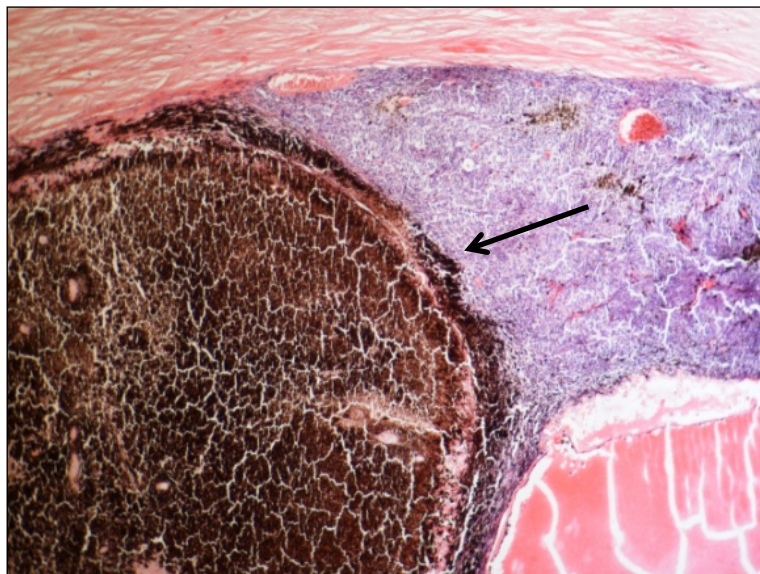


Abbildung 25 Tumornekrose (Pfeil), HE, 4x

Tumorblutung

Blutungen im Tumor wurden bei 32,9% der Präparate beobachtet. Fokale Blutungen machten mit 28,6% den größeren Anteil aus. Diffuse Blutungen (Abbildung 26) kamen nur bei 4,3% der Tumore vor. Verglichen zwischen den 3 Kollektiven konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p = 0,367$).

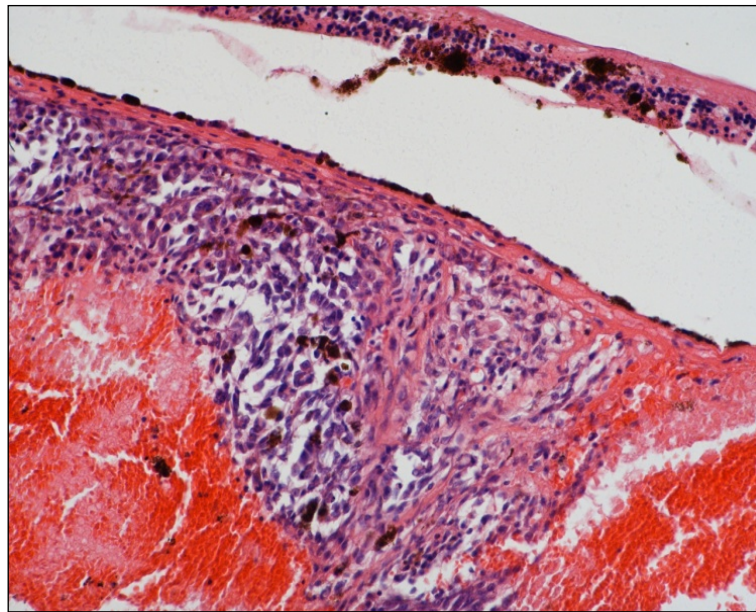


Abbildung 26 Diffuse Blutung, HE, 20x

Rubeosis iridis

Vier von 30 enukleierten Augen (13,3%) aus dem Ruthenium-106-Kollektiv zeigten histologisch eine Rubeosis iridis (Abbildung 27). Bei 13 von 28 Gamma-Knife-bestrahlten Augen (46,4%) ließ sich eine Rubeosis iridis beobachten. Histologisch konnte eine Rubeosis iridis im Gamma-Knife-Kollektiv verglichen mit dem Ruthenium-106-Kollektiv signifikant häufiger beobachtet werden ($p = 0,008$). Im Cyber-Knife-Kollektiv wurde in 37,5% eine Rubeosis iridis histologisch diagnostiziert. Es gab keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich eines häufigeren Auftretens im direkten Vergleich zum Ruthenium-Kollektiv ($p = 0,302$) und Gamma-Knife-Kollektiv ($p = 0,241$).

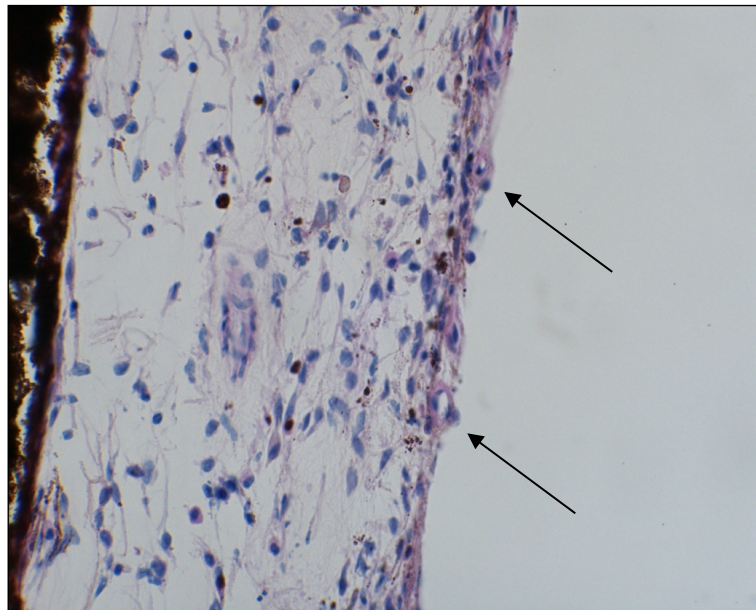


Abbildung 27 Rubeosis iridis (Pfeile), PAS, 40x

Tumorinfiltration in den Glaskörper

Tumorzellen im Glaskörper wurden bei 4,3% der Patienten gesehen.

Durchbruch durch die Bruch-Membran

50% der Ruthenium-106-bestrahlten Augen zeigten einen Durchbruch durch die Bruch-Membran (Abbildung 28). Im Gamma-Knife-Kollektiv lag der Anteil bei 53,6% und im Cyber-Knife-Kollektiv bei 33,3%. Einen signifikant gehäuften Durchbruch durch die Bruch-Membran konnten wir im Vergleich der 3 Kollektive nicht beobachten ($p = 0,514$).

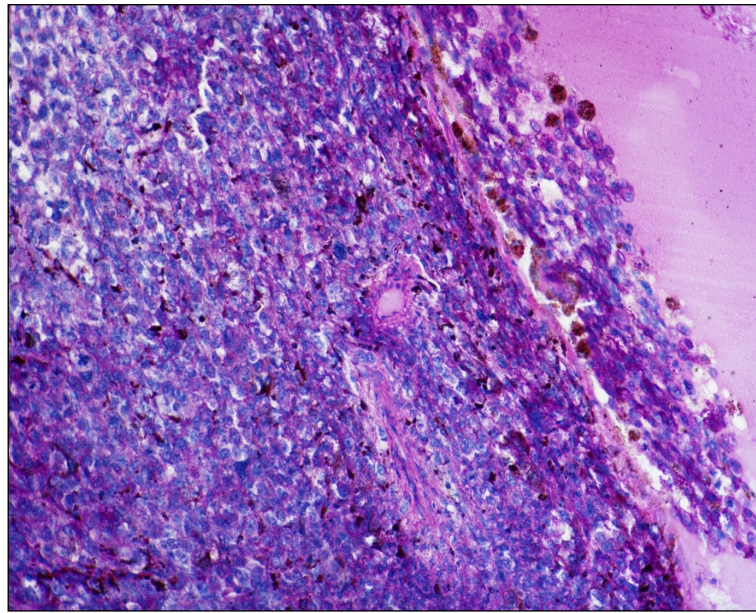


Abbildung 28 Durchbruch durch die Bruch-Membran, PAS, 20x

Tumorinfiltration in die Netzhaut und Ablatio retinae

Der Tumor breitete sich in 24,3% in die Netzhaut aus (Abbildung 29). Im Vergleich zwischen den 3 Kollektiven konnte keine signifikante Häufung festgestellt werden ($p= 0,571$). Eine Netzhautablösung wurde histologisch in allen betroffenen Augen (100%) gesehen.

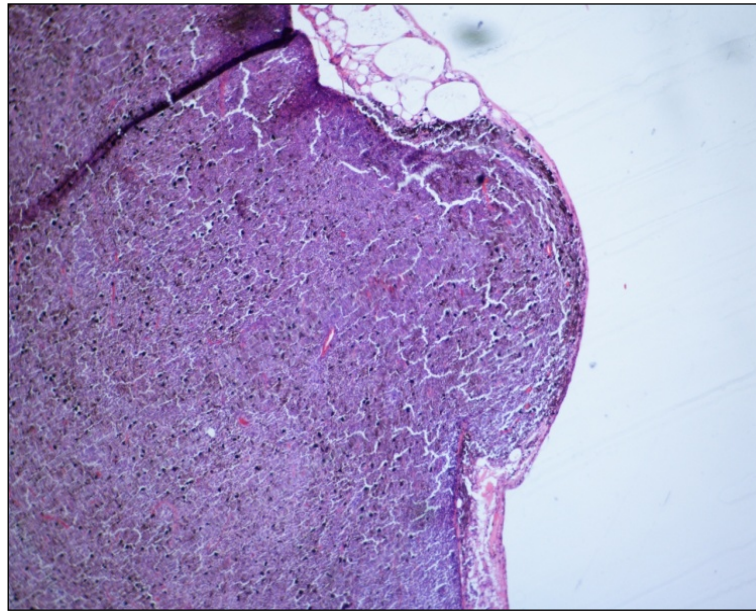


Abbildung 29 Einbruch des Tumors in die Netzhaut, PAS, 4x

Tumorinfiltration in die Sklera

Innere Schichten der Sklera

Die inneren Schichten der Sklera waren bei Ruthenium-106-bestrahlten Augen in 16 von 30 Fällen (53,3%) vom Tumor befallen. Im Gamma-Knife-Kollektiv breitete sich der Tumor in 16 von 28 Fällen (57,1%) in die inneren skleralen Schichten aus. Cyber-Knife-bestrahlte Augen zeigten in 5 von 12 Fällen (41,7%) ein Tumorwachstum in die inneren Schichten der Sklera. Im Vergleich zwischen den 3 Kollektiven bestand kein signifikanter Unterschied in Hinblick auf die Ausbreitung des Tumors in die inneren skleralen Schichten ($p=0,172$). Tendenziell wurden die inneren Schichten der Sklera häufiger im Ruthenium-106-Kollektiv als im Gamma-Knife-Kollektiv befallen ($p=0,067$).

Gesamte Sklera

Eine Tumordinvasion der gesamten Sklera fiel nur im Gamma-Knife-Kollektiv bei 3 von 28 Augen auf (10,7%).

Extrasklerales Wachstum

Ruthenium-106-bestrahlte Augen zeigten kein extrasklerales Wachstum. Bei 4 von 28 Patienten aus dem Gamma-Knife-Kollektiv (14,3%) und bei 1 von 12 Patienten aus dem Cyber-Knife-Kollektiv (8,3%) wurde ein extrasklerales Wachstum beobachtet (Abbildung 30). Signifikant häufiger ließ sich ein extrasklerales Wachstum im Gamma-Knife-Kollektiv im Vergleich zum Ruthenium-106-Kollektiv beobachten ($p=0,048$). Eine Tumorausbreitung in Emissarien (Abbildung 31) lag in 27,1% der Tumore vor, jedoch wurde keine signifikante Häufung zwischen den 3 Kollektiven festgestellt ($p=0,206$).

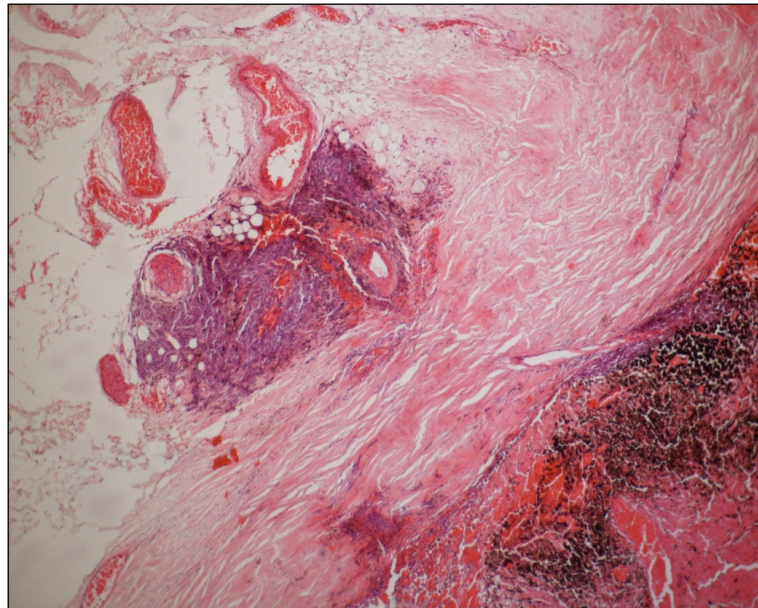


Abbildung 30 Extrasklerales Wachstum mit retrobulbärer Lage, 4x, HE

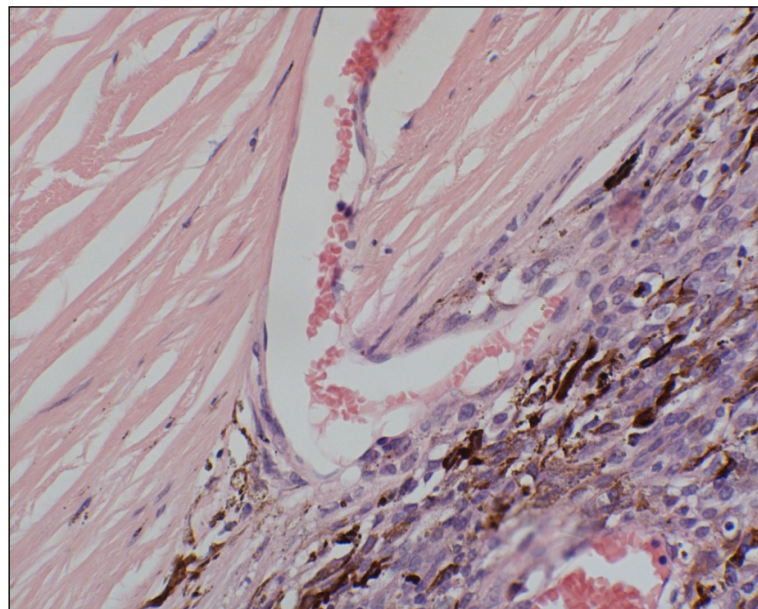


Abbildung 31 Emissarie, HE, 40x

Tumorinfiltration in den Nervus opticus

Eine Ausbreitung des Tumors über die Lamina cribrosa hinaus wurde nur bei 1,4% der Tumore gesehen. Eine Invasion der Tumorzellen in den postlaminären Nervus opticus (Abbildung 32) wurde nur im Gamma-Knife-Kollektiv bei 10,7% der Aderhautmelanome beobachtet. Im Vergleich zu den anderen Kollektiven lag eine signifikant häufigere Invasion in den Nervus opticus bei gemischtzelligen und epitheloidzelligen Aderhautmelanomen vor, die mit Gamma-Knife bestrahlt wurden.

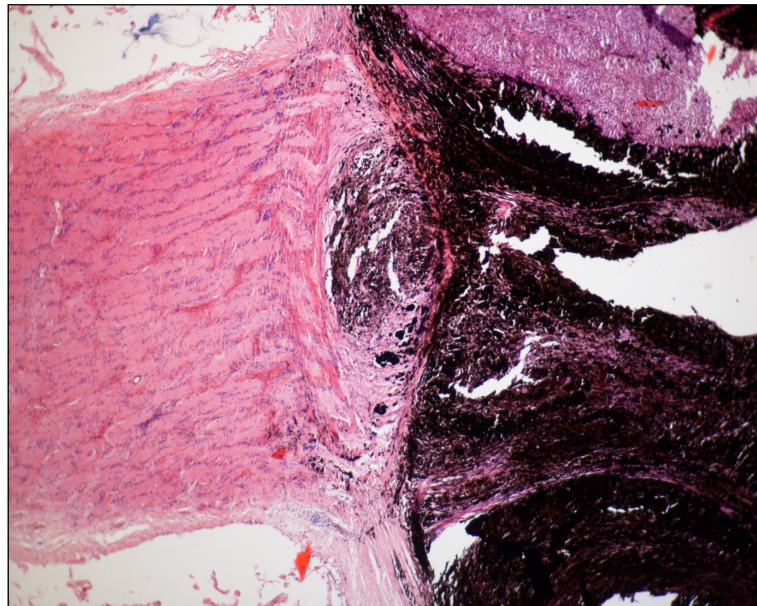


Abbildung 32 Tumorinvasion in den Nervus opticus, Status nach Gamma-Knife-Bestrahlung, HE, 4x

Diskussion

Das Einzigartige und Besondere an unserer Studie ist die Analyse und Beurteilung von klinischen Parametern und histomorphologischen sowie immunhistochemischen Ergebnissen von enukleierten, zuvor mit unterschiedlichen Techniken bestrahlten Augen mit Aderhautmelanom. Die Analyse klinischer, histopathologischer und immunhistochemischer Parameter aus 3 unterschiedlichen Bestrahlungsgruppen wurde in dieser Form noch nicht durchgeführt.

Die retrospektive Analyse klinischer Daten hinsichtlich des Entscheids zur ENUKLEATION wurde den zugehörigen Krankenakten entnommen und statistisch ausgewertet.

Unsere Evaluation zeigte, dass die Patientenverteilung hinsichtlich des Geschlechts nahezu gleich war und das mediane Alter bei Diagnosestellung bei 62 Jahren lag. Eine Geschlechtsunspezifität und ein ähnliches Erkrankungsalter wurde in der Literatur bereits beschrieben (4,32,33).

Die mittlere Zeit zwischen Bestrahlung bis zur ENUKLEATION betrug in unserer Studie 39,1 Monate (Zeitspanne: 0-91 Monate). Von einer annähernd gleich langen enukleationsfreien Zeit berichtet auch *Russo et al.* (32).

Die in unserer Studie eingeschlossenen Bulbi wurden entsprechend ihrer Bestrahlungsart in 3 Kollektive eingeteilt. Es ergaben sich somit folgende Bestrahlungsgruppen: Ruthenium-106-Kollektiv (42,9%), Gamma-Knife (40%) und Cyber-Knife (17,1%). Die Tatsache, dass auch Augen mit großen Tumoren in den 80er Jahren mit Ruthenium-106-Bestrahlung therapiert und in unsere Studie eingeschlossen wurden, erlaubt uns einen guten direkten Vergleich der drei Bestrahlungsgruppen untereinander.

Die in unserer Studie bestimmte Bestrahlungsdosis Ruthenium-106-behandelter Tumoren mit einer im Mittel ermittelten Dosis von 80,1 Gray (Minimum: 56,7 Gray und Maximum 104,5 Gray) an die Tumorspitze korreliert gut mit Ergebnissen aus einer aktuellen Studie (32).

Hingegen ist die sklerale Bestrahlungsdosis in unserer Studie mit 968,9 Gray (Minimum: 690,8 Gray und Maximum: 1247 Gray) höher als in anderen Studien (32,33).

Die in der Gamma-Knife- und Cyber-Knife-Gruppe maximal abgegebene Maximaldosis betrug im Mittel 38,3 Gray (Minimum: 29,5 Gray und Maximum: 47,1 Gray), die mittlere Randdosis 21,7 Gray (Minimum: 16,8 Gray und Maximum: 26,6 Gray) und die mittlere Isodosis 57,6% (Minimum: 45,8% und Maximum: 69,4%). Diese für Gamma-Knife gewählte Bestrahlungsdosis ist mit den Bestrahlungswerten aus der aktuellen Literatur gut vergleichbar (37,38,56).

In unserer Studie wurde in 54,7% der eingeschlossenen Patienten das betroffene erkrankte Auge aufgrund eines Tumorrezidivs enukleiert. Ein Sekundärglaukom führte in 29,1% und ein fehlender Therapieerfolg in 18,8% zu einer Enukleation.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass allgemein signifikant häufiger Augeninnendruckanstiege (>21 mmHg) im Gamma-Knife-Kollektiv im Vergleich zu den beiden anderen Bestrahlungsgruppen vorkamen. Im Vergleich zum Ruthenium-106-Kollektiv wurde ein Glaukom sowohl im Gamma-Knife- als auch im Cyber-Knife-Kollektiv signifikant häufiger beobachtet. Als zweithäufigsten Enukleationsgrund nach Gamma-Knife-Bestrahlung gab auch *Wackernagel et al.* ein unkontrollierbares neovaskuläres Glaukom an (38).

Emara et al. publizierte Daten, dass 20% aller stereotaktisch behandelten uvealen Melanome nach 18 Monaten ein Sekundärglaukom entwickelten (57). In einer direkten Gegenüberstellung von protonenbestrahlten versus enukleierten uvealen Melanome zeigte sich, dass im bestrahlten Kollektiv in 55% der Fälle ein Neovaskularisationsglaukom der Grund für eine Enukleation war (11).

Damato et al. publizierte Ergebnisse zu Enukleationsindikationen, die innerhalb der ersten beiden postoperativen Jahren wegen Glaskörperblutung, Tumorrezidiv und Netzhautablösung gestellt wurden (33).

Die 70 in unsere Studie eingeschlossenen Bulbi mit Aderhautmelanom wurden auch histomorphologisch und immunhistochemisch beurteilt.

Lokalisiert waren die Aderhautmelanome in 85,6% der Fälle am hinteren Augenpol (Äquator-Papille). Zwischen 75-96,3% aller uvealen Melanome lagen laut aktueller Literatur posterior (3,9,58).

Insgesamt wurden 55,7% unserer eingeschlossenen Tumore als spindelzellig, 31,4% als gemischtzellig und 11,4% als epitheloidzellig beurteilt. Zwischen den 3

Bestrahlungskollektiven konnte kein statistisch relevanter Unterschied hinsichtlich eines Tumorzelltyps festgestellt werden. *Hadden et al.* gab im Rahmen der histopathologischen Sicherung nach Endoresektion ebenfalls spindelzellige als häufigste, gemischtzellige als zweithäufigste und epitheloidzellige als dritthäufigste Tumoren an (42).

Die Collaborative Ocular Melanoma Study Group von 1998 hingegen publizierte Ergebnisse zur Häufigkeit des Tumorzelltyps wie folgt: 86% gemischtzellig, 9% als spindelzellig und 5% als epitheloidzellig (9). Unsere Ergebnisse zu der Häufigkeit der Tumorzelltypen unterschied sich jedoch von jenen der Collaborative Ocular Melanoma Study Group von 1998. Ein möglicher Grund könnte sein, dass es keine einheitlichen Diagnosekriterien gibt und wir in unserer Arbeit die Diagnosekriterien von Grossniklaus angewandt haben.

Die Tumore unserer Studie wurden auch hinsichtlich ihrer mitotischen Aktivität beurteilt. Die statistische Auswertung ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den 3 Bestrahlungsgruppen. Auffällig war hingegen die Tatsache, dass in 57,1% aller Tumore keine Mitose gesehen wurde. Der immunhistochemische Proliferationsmarker Ki-67 war ebenfalls in 44% negativ. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass in den bestrahlten Tumoren offensichtlich keine wesentliche Proliferation stattfand. Die Beurteilung der Entzündungsparameter mit Hilfe der immunhistochemischen Marker CD-3, CD-20 und CD-68 ergab, dass abgesehen von 4 CD-3-negativen und 5 CD-68-negativen Aderhautmelanomen der Großteil der Tumore eine positive Färbereaktion auf die Entzündungsmarker zeigte. Entzündungszellen in oder um Tumore sind ein wichtiger prognostischer Faktor in malignen Erkrankungen (13).

In uvealen Melanomen ist die Anwesenheit von Lymphozyten mit einem Chromosom-3-Verlust und somit schlechtem Behandlungserfolg assoziiert (59). Eine Infiltration von Entzündungszellen kommt häufiger in bestrahlten Augen vor (11). Makrophagen spielen sowohl in der Tumorentstehung als auch im Heilungsprozess eine wichtige Rolle. Diese Zellen gelangen vom Knochenmark in die Blutbahn und werden über spezifische Chemokine zu Entzündungsherden oder Stellen der Zellproliferation gelockt (12).

TAM (tumorassoziierte Makrophagen) fördern ein Tumorwachstum und sind an der Angiogenese, Invasion und Metastasierung beteiligt. Folglich ist eine erhöhte Zahl an TAM auch mit einer schlechten Prognose assoziiert (60). Es werden 2 Arten von TAM unterschieden: der anti-tumoröse M1-Typ und der die Angiogenese fördernde M2-Typ (CD68 +) (61). Makrophagen korrelieren mit einer erhöhten Zahl an Blutgefäßen, wodurch die Vermutung naheliegt, dass diese eine wichtige Rolle in der Angiogenese spielen (62,63).

Auch in unserer Studie wurde die Tumolvaskularität beurteilt: Die statistische Analyse ergab, dass bis auf 2 Fälle alle bestrahlten Tumore Gefäße hatten. Von diesen Tumorgefäßen wiederum waren 87% thrombosiert. *Saornil MA et al.* beschreibt thrombotische Gefäßveränderungen (16%) nur im protonenbestrahlten Kollektiv im Vergleich zur nicht-bestrahlten enukleierten Gruppe (11).

Seddon et al. berichtete von vaskulären Veränderungen in Nekrosearealen von mit Protonenstrahlung therapierten Ziliarkörper- und Aderhautmelanomen. Beschrieben wurden eine endotheliale Zellschwellung, eine verminderte Lumengröße, eine verdickte Basalmembran und Gefäßthrombosen (14).

Heindl et al. definierte eine Vaskulopathie histologisch als signifikantes Unterscheidungsmerkmal zwischen Brachytherapie-behandelten und nicht-bestrahlten Aderhautmelanomen (64). Die Tumolvaskularität scheint ein wichtiger Mechanismus in der Tumorkontrolle zu sein. Die Anwesenheit von Gefäßschleifen bei uvealem Melanom wurde als Indikator für eine schlechte Prognose postuliert (65).

Aus Studien ist bekannt, dass ab einem bestimmten Zeitpunkt des Tumorwachstums der heranwachsende Tumor eine lokale Hypoxie durchmacht, welche dazu führt, dass über proinflammatorische Mediatoren und Immunzellen eine Angiogenese gefördert wird, um Krebszellen ein Überleben zu sichern (66). Eine erhöhte Tumolvaskularität bei gemischt- und epitheloidzelligen, grossen Tumoren sowie bei Durchbruch der Bruch-Membran wurde in der Literatur bereits beschrieben (9).

Unsere Ergebnisse zeigen jedoch weder einen statistischen Unterschied zwischen den Bestrahlungskollektiven noch eine positive Assoziation zwischen Tumervaskularität und Bruch-Membran-Durchbruch. Insgesamt unterstreichen unsere Ergebnisse jedoch die Tatsache, dass offensichtlich ein (wenn auch nicht statistisch belegbarer) Zusammenhang zwischen der erhöhten Zahl an Entzündungszellen und der Tumervaskularität insofern besteht, als dass es sich in allen 3 Kollektiven um eine Negativauswahl an bestrahlten Tumoren handelt. Die nachgewiesene Entzündung und Tumervaskularität können somit ein Indiz für ein schlechtes therapeutisches Ansprechen sein.

Tumornekrose zeigte sich in allen unseren Bestrahlungsgruppen. Keine Tumornekrose wurde in 22,9% der Fälle festgestellt. Nekrotische Anteile zwischen 10-50% zeigten 35,7% der Tumore. 11 von 70 untersuchten Bulbi mit Aderhautmelanom zeigten einen Anteil von > 50% in unserer Studie. Die *Collaborative Ocular Melanoma Study Group* von 1998 beschrieb ebenfalls nekrotische Anteile in den beurteilten Tumoren (9).

Nekroseareale entstehen laut *Devouassoux Shishe Boran et al.* im Rahmen einer radiogenen Gefäßzerstörung (67).

Eine histologisch gesicherte Tumordinfiltration in die Sklera wurde bei 53,3% aller in unserer Studie eingeschlossenen Ruthenium-106-behandelten Augen gesehen. Im Gamma-Knife-Kollektiv waren die inneren Skleraschichten in 57,1% der Augen betroffen und in der Cyber-Knife-Bestrahlungsgruppe war der Anteil mit 41,7% etwas kleiner. Folglich sind unsere Ergebnisse zum Befall der inneren Skleraschichten als häufiges Ereignis zu werten. Hinsichtlich der Ausbreitungshäufigkeit in die inneren Skleraschichten gab es jedoch keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den 3 Bestrahlungsgruppen. Literaturdaten zeigen im Vergleich zu unseren Ergebnissen „keine Invasion oder eine Invasion in die inneren Skleraschichten“ in 36,2% der Fälle (9). Eine Tumordinvasion der gesamten Sklera fiel ausschließlich in unserem Gamma-Knife-Kollektiv (10,7%) auf.

Ein besonderes Augenmerk verdient die Tatsache, dass Ruthenium-106-behandelte Augen in unserer Studie kein extrasklerales Wachstum zeigten. Im Gamma-Knife-Kollektiv waren 14,3% und im Cyber-Knife-Kollektiv 8,3% der bestrahlten Augen von einem extraskleralen Tumorstadium betroffen.

Im direkten Vergleich der Ruthenium-106- und Gamma-Knife-Bestrahlungsgruppe ließ sich ein signifikant häufigeres Auftreten eines extraskleralen Tumorwachstums in der Gamma-Knife-Gruppe feststellen. Eine mögliche Erklärung für dieses statistisch signifikante Ergebnis wäre, dass die aufgenähten Skleraplaques und die hohe lokale Strahlendosis an der Sklera in Ruthenium-106-behandelte Augen eine Tumorausbreitung verhindern könnten. Bei Gamma-Knife-bestrahlten Augen hingegen wird die größte Bestrahlungsdosis zentral mit Abnahme der Bestrahlungsdosis in die Tumorperipherie abgegeben. Somit besteht die Möglichkeit eines Nichterreichens der peripheren Tumorränder und einer extraskleralen Ausbreitung.

Eine Invasion in den Nervus opticus wurde in unserem Gamma-Knife-Kollektiv signifikant häufiger festgestellt und war mit einer gemischtzelligen oder epitheloidzelligen Tumortyp assoziiert. Tumorzellen im postlaminären Nervus opticus wurden ausschließlich nach Gamma-Knife-Bestrahlung in 10,7% beobachtet. Literaturergebnisse zeigen eine Invasion in den Nervus opticus in 6,9% aller uvealen Melanome (9).

Die Tatsache, dass epitheloidzellige Tumore ein aggressiveres Wachstumsverhalten zeigen (9), stützt unser Ergebnis, dass gemischt-/ epitheloidzellige Tumore dazu neigen in den Nervus opticus zu infiltrieren. Laut *Coupland et al.* korreliert eine neurale Infiltration signifikant mit einer hohen mitotischen Rate (68).

Diese Beobachtung konnte im Rahmen unserer Studie nicht bestätigt werden, jedoch handelte es sich in der Studie von *Coupland et al.* nicht wie in unserer Analyse um bestrahlte Tumore, von denen eine niedrigere mitotische Aktivität erwartet wird.

Zusammenfassung

Das Aderhautmelanom ist der häufigste primäre intraokuläre Tumor und es gibt je nach Größe und Lage des Aderhautmelanoms unterschiedliche therapeutische Optionen (4,5,28,31,32,34,37).

Ziel der Studie war, enukleierte Bulbi nach Bestrahlung nach histologischen, immunhistochemischen und klinischen Parametern hinsichtlich relevanter Faktoren zu untersuchen, die möglicherweise zu einem Therapieversagen führten. Diese Studie schloss bestrahlte und im Verlauf enukleierte Bulbi mit Aderhautmelanom vergleichbarer Größe in dem Zeitraum März 1987 bis zum Oktober 2011 an der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München ein.

Die Dauer zwischen Erstdiagnose und Behandlung betrug im Mittel 6,64 Monate (Zeitspanne: 0-91 Monate) und im Mittel vergingen 39,1 Monate von der Bestrahlung bis zur Eukleation (Zeitspanne: 1-193 Monate).

Es wurden 44 rechte (62,9%) und 26 linke Augen (37,1%) untersucht (insgesamt 70 Bulbi). Je nach Bestrahlungsart wurden die Patienten in 3 Kollektive eingeteilt: Ruthenium-106 (n=30, 42,9%), Gamma-Knife (n=28, 40%) und Cyber-Knife (n=12, 17,1%). Da auch Augen mit großen Aderhautmelanomen, die mit Ruthenium-106-Plaques in den achziger Jahren behandelt wurden, in die Studie eingeschlossen wurden, konnten die 3 Kollektive gut untereinander verglichen werden.

Die Tumorgrößen wurden sowohl makroskopisch als auch sonographisch erfasst. Bei Diagnosestellung war die mittlere Tumorprominenz 6,11 mm (Minimum: 3,85 mm und Maximum: 8,37 mm) und vor Eukleation 6,17 mm (Minimum: 3,76 mm und Maximum: 8,58 mm). Die mittlere Tumorbasis im transversalen Schnitt war bei Diagnosestellung 11,95 mm (Minimum: 9,35 mm und Maximum: 14,55 mm) und im longitudinalen Schnitt 12,21 mm (Minimum: 10,11 mm und Maximum: 15,27 mm). Vor Eukleation lagen die Werte der mittleren Tumorbasis transversal und longitudinal bei 12,21 mm (Minimum: 8,89 mm und Maximum: 15,93 mm). Die sonographisch erfassten Werte der Tumorbasis vor Eukleation korrelierten signifikant mit den histologisch gemessenen Werten der Tumorbasis ($p = 0,037$).

Der Visusabfall vor Enukleation war im Gamma-Knife-Kollektiv im direkten Vergleich mit Ruthenium-106 bestrahlten Augen signifikant ($p=0,032$).

50% aller Patienten zeigten ein klinisch manifestes Glaukom nach Bestrahlung, wobei sich ein Augeninnendruckanstieg (>21 mmHg) signifikant häufiger im Gamma-Knife-Kollektiv im Vergleich mit den beiden anderen Bestrahlungsgruppen zeigte ($p=0,018$). Im Vergleich zum Ruthenium-106-Kollektiv traten Glaukome signifikant häufiger sowohl im Gamma-Knife- ($p=0,027$) als auch im Cyber-Knife-Kollektiv ($p=0,028$) auf.

Zu den postradiogenen klinischen Komplikationen gehörten außerdem eine Rubeosis iridis (21% aller Fälle) sowie eine Glaskörperblutung (24,3 % aller Fälle). Eine Ablatio retinae lag bei 85,1% aller Fälle vor.

Die 2 häufigsten klinischen Indikationen zur Enukleation waren das Rezidiv (54,7%) und das Sekundärglaukom (39%). Sekundärglaukome führten im direkten Vergleich mit dem Ruthenium-106-Kollektiv sowohl im Gamma-Knife- ($p=0,004$) als auch im Cyber-Knife-Kollektiv ($p=0,038$) signifikant häufiger zu Enukleationen. Sekundärglaukome als häufige postradiogene Komplikation, die oftmals in einer Enukleation resultiert, wurden bereits in der Literatur beschrieben (57).

Die histologische und immunhistochemische Beurteilung der bestrahlten Tumoren wies folgende Merkmale auf: Die Mehrzahl der Tumoren waren spindelzellig (55,7%), lagen posterior (85,6%), waren in 45,7% der Fälle stark pigmentiert und zeigten in 45,7% eine Einwanderung der Tumorzellen in die Sklera. Die inneren Schichten der Sklera waren tendenziell häufiger im Ruthenium-106-Kollektiv als im Gamma-Knife-Kollektiv ($p=0,067$) befallen. Ein extrasklerales Wachstum hingegen ließ sich signifikant häufiger im Gamma-Knife-Kollektiv im Vergleich zur Ruthenium-106-Gruppe beobachten ($p=0,048$). Eine Infiltration in den Nervus opticus wurde nur im Gamma-Knife-Kollektiv in 10,7% der Fälle gesehen und war mit einem gemischt-/epitheloidzelligen Tumortyp signifikant assoziiert ($p=0,046$).

Die fehlende mitotische Aktivität in 57,1% der Tumore und das signifikant häufige gemeinsame Auftreten von Entzündungszellen (T-Lymphozyten, B-Lymphozyten und Makrophagen) CD-3/CD-20 ($p=0,017$), CD-20/CD-68 ($p=0,046$) und CD-20/CD-68 ($p=0,029$) in unserer Studie wurden bei bestrahlten Bulbi mit Aderhautmelanom bereits beschrieben (11,13,59).

Interessant war, dass sich sowohl die mitotische Aktivität als auch die Infiltration von Entzündungszellen in und um den Tumor zwischen den Bestrahlungskollektiven nicht unterschied. Dies deutet auf ähnliche pathogenetische Mechanismen in der Tumorzerstörung durch alle 3 Bestrahlungsmodalitäten hin.

Die histologischen, immunhistochemischen und klinischen Ergebnisse, die wir in unserer Klinik gesehen haben, decken sich gut mit jenen der aktuellen Literatur. Insgesamt ist sowohl die Ruthenium-106-Bestrahlung als auch die stereotaktische Radiochirurgie eine gute Alternative zur primären Enukleation.

Die Ergebnisse unserer Studie verdeutlichen, dass nur bei einem kleinen Anteil der Patienten unserer Klinik (70 Bulbi zwischen 1987-2011) die Bestrahlung als primäre Therapie nicht erfolgreich war. Die hier vorliegenden Daten beziehen sich somit auf eine klare Negativauswahl. Insgesamt decken sich unsere Ergebnisse zu den postradiogenen Komplikationen gut mit jenen der aktuellen Literatur. Unsere Daten unterstreichen, dass nach stereotaktischer Radiochirurgie ein Sekundärglaukom beziehungsweise ein extrasklerales Wachstum häufiger auftritt als nach Ruthenium-106-Bestrahlung. Regelmäßige Tumornachkontrollen garantieren, dass diese Komplikationen frühzeitig entdeckt und behandelt werden können.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Größeneinteilung von choroidalen Melanomen nach COMS 1997	8
Tabelle 2 Einteilung der Tumorreflektivität.....	32
Tabelle 3 Komplikationen	33
Tabelle 4 Indikation zur Enukleation	34
Tabelle 5 Antikörperspezifität, Verdünnung und Hersteller	40
Tabelle 6 Antikörperreaktion.....	42
Tabelle 7 Tumorgefäße.....	43
Tabelle 8 Tumurvitalität	43
Tabelle 9 Tumorregression.....	43
Tabelle 10 Tumornekrose.....	44
Tabelle 11 Tumorinfiltration in die Sklera.....	45
Tabelle 12 Tumorinfiltration in den Nervus opticus	45
Tabelle 13 Antikörperfärbereaktion.....	56
Tabelle 14 Anzahl der Tumorgefäße	64
Tabelle 15 Anzahl der thrombosierten Tumorgefäße.....	64

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Gamma-Knife-Bestrahlung (nach Mueller et al. 2003).....	20
Abbildung 2 Behandlung im Cyber-Knife-Zentrum in München.....	22
Abbildung 3 Funduskopie eines peripapillär gelegenen Uveamelanoms vor Cyber-Knife- Radiochirurgie	23
Abbildung 4 Ultraschall-B-Scan vor Cyber-Knife-Radiochirurgiebehandlung	23
Abbildung 5 CT-Planungsscan der Isodosis für eine Cyber-Knife-Bestrahlung	23
Abbildung 6 Funduskopie eines blasserem peripapillär gelegenen Uveamelanoms 6 Monate nach Cyber-Knife-Radiochirurgie	24
Abbildung 7 Ultraschall-B-Scan Aderhautmelanoms 6 Monate nach Cyber-Knife- Radiochirurgiebehandlung mit deutlicher Größenabnahme des Tumors	24
Abbildung 8 Klinische Indikation zur Enukleation.....	51
Abbildung 9 Aderhautmelanom vom spindelzelligen Tumortyp	52
Abbildung 10 Aderhautmelanom vom epitheloidzelligen Tumortyp	53
Abbildung 11 Aderhautmelanom vom gemischtzelligen Tumortyp	53
Abbildung 12 Mitose	54
Abbildung 13 Ballonzellen	55
Abbildung 14 S-100	57
Abbildung 15 HMB-45	58
Abbildung 16 Melan-A	59
Abbildung 17 MITF	60
Abbildung 18 CD-3	61
Abbildung 19 CD-68	62
Abbildung 20 Ki-67	63
Abbildung 21 Tumorgefäße	65
Abbildung 22 Tumorregression.....	66
Abbildung 23 Tumornekrose.....	67
Abbildung 24 Tumornekrose.....	68
Abbildung 25 Tumornekrose.....	68
Abbildung 26 Diffuse Blutung	69
Abbildung 27 Rubeosis iridis	70
Abbildung 28 Durchbruch durch die Bruch-Membran	71
Abbildung 29 Einbruch des Tumors in die Netzhaut	72
Abbildung 30 Extrasklerales Wachstum mit retrobulbärer Lage	74
Abbildung 31 Emissarie	74
Abbildung 32 Tumorinvasion in den Nervus opticus	75

Literaturverzeichnis

1. Benninghoff und Drenckhahn. Anatomie. Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen: Urban & Schwarzenberg 17. Auflage, 2008
2. Virgili G., Gatta G., Ciccolallo L., Capocaccia R., Biggeri A., Crocetti E., Lutz J. M., Paci E. and EUROCARE Working Group. Incidence of uveal melanoma in Europe. *Ophthalmology*. 2007;114(12): 2309-15
3. The Collaborative Ocular Melanoma Study Group. COMS Report No. 5: Factors predictive of growth and treatment of small choroidal melanoma. *Arch Ophthalmol*. 1997;115(12): 1537-44
4. Keenan T. D., Yeates D. and Goldacre M. J. Uveal melanoma in England: trends over time and geographical variation. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(11): 1415-9
5. Singh A. D. and Topham A. Incidence of uveal melanoma in the United States: 1973-1997. *Ophthalmology*. 2003;110(5): 956-61
6. Singh A. D., Turell M. E. and Topham A. K. Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival. *Ophthalmology*. 2011;188(9): 1881-5
7. The Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Sociodemographic and clinical predictors of participation in two randomized trials: Findings from the collaborative ocular melanoma study COMS Report No. 7. *Controlled Clinical Trials*. 2001;22(5): 526-37
8. Ewens K. G., Kanetsky P. A., Richards-Yutz J, Al-Dahmash S., De Luca M., Bianciotto C. G., Shields C. L. and Ganguly A. Genomic Profile of 320 Uveal Melanoma Cases: Chromosome 8p-Loss and Metastatic Outcome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54(9): 5721-9
9. The Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Histopathologic characteristics of uveal melanomas in eyes enucleated from the Collaborative Ocular Melanoma Study: COMS Report No. 6. *Am J Ophthalmol*. 1998;125(6): 745-66
10. Sehu K. W. and Lee W. R. *Ophthalmic Pathology: An Illustrated Guide for Clinicians*, 2005
11. Saornil M. A., Egan K. M., Gragoudas E. S., Seddon J. M., Walsh S. M and Albert D. M. Histopathology of Proton Beam-Irradiated vs Enucleated Uveal Melanomas. *Arch Ophthalmol*. 1992;110(8): 1112-8
12. Coussens L. M. and Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420(6917): 860-7
13. Fridman W. H., Galon J., Pages F., Tartour E., Sautes-Fridman C. and Kroemer G. et. Prognostic and predictive impact of intra- and peritumoral immune infiltrates. *Cancer Res*. 2011;71(17): 5601-5
14. Seddon J. M., Gragoudas E. S. and Albert D. M. Ciliary Body and Choroidal Melanomas Treated by Proton Beam Irradiation. Histopathologic Study of Eyes. *Arch Ophthalmol*. 1983;101(9)= 1402-8
15. Shields C. L., Kaliki S., Livesey M., Walker B., Garoon R., Bucci M., Feinstein E., Pesch A., Gonzalez C., Lally S. E., Mashayekhi A. and Shields J. A. Association of ocular and oculodermal melanocytosis with the rate of uveal melanoma metastasis: analysis of 7872 consecutive eyes. *JAMA Ophthalmol*. 2013;131(8): 993-1003

16. Gonder J. R., Ezell P. C., Shields J. A. and Augsburger J. J. Ocular melanocytosis: A study to determine the prevalence rate of ocular melanocytosis. *Ophthalmology*. 1982;89(8): 950-2
17. Singh A. D., Kalyani P. and Topham A. Estimating the risk of malignant transformation of a choroidal nevus. *Ophthalmology*. 2005;112(10): 1784-9
18. Shields C. L., Furuta M., Berman E. L., Zahler J. D., Hoberman D. M., Dinh D. H., Mashayekhi A. and Shields J. A. Choroidal nevus transformation into melanoma: analysis of 2514 consecutive cases. *Arch Ophthalmol*. 2009;127(8): 981-7
19. Li H. K., Shields C. L., Mashayekhi A., Randolph J. D., Bailey T., Burnbaum J. and Shields J. A. Giant choroidal nevus clinical features and natural course in 322 cases. *Ophthalmology*. 2010;117(2): 324-33
20. The Collaborative Ocular Melanoma Study Group, Boldt H. C., Byrne S. F., Gilson M. M., Finger P. T., Green R. L., Straatsma B. R., Simpson E. R. and Hawkins B. S. Baseline echographic characteristics of tumors in eyes of patients enrolled in the Collaborative Ocular Melanoma Study: COMS report no. 29. *Ophthalmology*. 2008;115(8): 1390-7
21. Mafee M. F., Peyman G. A., Grisolan J. E., Fletcher M. E., Spigos D. G., Wehrli F. W., Rasouli F. and Capek V. Malignant uveal melanoma and simulating lesions: MR imaging evaluation. *Radiology*. 1986;160(3): 773-80
22. Müller-Miny H., Pötter R., Clemens S. und Knocke T. H. The sensitivity of computed tomography in the detection of malignant melanomas of the choroid. *Rofo*. 1991;154(4):425-9
23. Bechrakis N. E., Foerster M. H. and Bornfeld N. Biopsy in in determinate intraocular tumors. *Ophthalmology*. 2002;109(2): 235-42
24. Klingenstein A., Haug A. R., Nentwich M. M., Tiling R. and Schaller U. C. Whole-body F-18-fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography/computed tomography imaging in the follow-up of metastatic uveal melanoma. *Melanoma Res*. 2010;20(6): 511-6
25. Haritoglou I., Wolf A., Maier T., Haritoglou C., Hein R. and Schaller U. C. Osteopontin and `melanoma inhibitory activity`: comparison of two serological tumor markers in metastatic uveal melanoma patients. *Ophthalmologica*. 2009;223(4): 239-43
26. Moore R. F. Choroidal Sarcoma Treated by the Intraocular Insertion of Radon Seeds. *Br J Ophthalmol*. 1930;14(4): 145-52
27. Ferry A. P. Lesions Mistaken for Malignant Melanoma of the Posterior Uvea. A Clinicopathologic Analysis of 100 Cases with Ophthalmoscopically Visible Lesions. *Arch Ophthalmol*. 1964;72: 463-9
28. Lommatzsch P. and Vollmar R. A new way in the conservative therapy of intraocular tumors by means of beta-irradiation (Ruthenium 106) with preservation of vision. *Klin Monbl Augenheilkd*. 1966;148(5): 682-99
29. Damato B. Progress in the management of patients with uveal melanoma. The 2012 Ashton Lecture. *Eye (Lond)*. 2012;26(9): 1157-72
30. Kanski J. J. *Klinische Ophthalmologie: Lehrbuch und Atlas*. Urban & Fisher in Elsevier 6. Auflage, 2008
31. Nag S., Quivey J. M., Earle J. D., Followill D., Fontanesi J., Finger P. T. and American Brachytherapy Society. The American Brachytherapy Society recommendations for brachytherapy of uveal melanomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2003;56(2): 544-55

32. Russo A. Laguardia M. and Damato B. Eccentric ruthenium plaque radiotherapy of posterior choroidal melanoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2012;250(10): 1533-40
33. Damato B., Patel I., Campbell I. R., Mayles H. M. and Errington R. D. Local tumor control after ¹⁰⁶Ru brachytherapy of choroidal melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005; 63(2): 385-91
34. Macdonald E. C., Cauchi P. and Kemp E. G. Proton beam therapy for the treatment of uveal melanoma in Scotland. *Br J Ophthalmol.* 2011;95(12): 1691-5
35. Dendale R., Lumbroso- Le Rouic L, Noel G., Feuvret L, Levy C., Delacroix S., Meyer A., Nauraye C., Mazal A., Mammar H., Garcia P., D'Hermies F., Frau E., Plancher C., Asselain B., Schlienger P., Mazon J. J. and Desjardins J. Proton beam radiotherapy for uveal melanoma: results of Curie Institut-Orsay proton therapy center (ICPO). *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;65(3): 780-7
36. Leksell L. Stereotactic radiosurgery. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1983;46(9): 797-803
37. Mueller A. J., Schaller U., Talies S., Horstmann G. A., Wowra B. and Kampik A. Stereotactic radiosurgery using the Gamma Knife for large uveal melanomas. *Ophthalmologie.* 2003;100(2): 122-8
38. Wackernagel W., Holl E., Tarmann L., Mayer C., Avian A., Schneider M., Kapp K. S. and Langmann G. Local tumor control and eye preservation after gamma-knife radiosurgery of choroidal melanomas. *Br J Ophthalmol.* 2014;98(2): 218-23
39. Muacevic A., Nentwich M. Wowra B., Staerk S., Kampik A. und Schaller U. Development of a streamlined, non-invasive robotic radiosurgery method for treatment of uveal melanoma. *Technol Cancer Res Treat.* 2008;7(5): 369-74
40. Fernandes B. F., Weisbrod D., Yücel Y. H., Follwell M., Krema H., Heydarian M., Xu W., Payne D., McGowan H., Simpson E. R., Laperriere N. and Sahgal A. Neovascular glaucoma after stereotactic radiotherapy for juxtapapillary choroidal melanoma: histopathologic and dosimetric findings. *Int J Radioat Oncol Biol Phys.* 2011;80(2): 377-84
41. Krema H., Somani S., Sahgal A., Xu W., Heydarian M., Payne D., McGowan H., Michaels H., Simpson E. R. and Laperriere N. Stereotactic radiotherapy for treatment of juxtapapillary choroidal melanoma: 3-year-follow-up. *Br J Ophthalmol.* 2009;93(9): 1172-6
42. Hadden P. W., Hiscott P. S. and Damato B. E. Histopathology of eyes enucleated after endoresection of choroidal melanoma. *Ophthalmology.* 2004;111(1): 154-160
43. Damato B., Groenewald C., McGalliard J. and Wong D. Endoresection of choroidal melanoma. *Br J Ophthalmol.* 1998;82(3): 213-8
44. Mashayekhi A., Shields C. L., Rishi P., Atalay H. T., Pellegrini M., McLaughlin J. P., Patrick K. A., Morton S. J., Remmer M. H., Parendo A., Schlitt M. A. and Shields J. A. Primary Transpupillary Thermotherapy for Choroidal Melanoma in 391 Cases. Importance of Risk Factors in Tumor Control. *Ophthalmology.* 2015;122(3): 600-9
45. Lima B. R., Schoenfield L. R. and Singh A. D. The impact of intravitreal bevacizumab therapy on choroidal melanoma. *Am J Ophthalmol.* 2011;151(2): 323-8
46. Wiley J. F., Laird K., Beran T., McCannel T. A. and Stanton A. L. Quality of life and cancer-related needs in patients with choroidal melanoma. *Br J Ophthalmol.* 2013;97(11): 1471-4

47. Caminal J. M., Ribes J., Cleries R., Ibanez N., Arias L., Piulats J. M., Pera J., Gutierrez C. and Arruga J. Relative survival of patients with uveal melanoma managed in a single center. *Melanoma Res.* 2012;22(3): 271-7
48. Kath R., Hayungs J., Bornfeld N., Sauerwein W., Höffken K. and Seeber S. Prognosis and treatment of disseminated uveal melanoma. *Cancer.* 1993;72(7):2219-23
49. Hawkins B. S. and The Collaborative Ocular Melanoma Study Group. The Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) randomized trial of pre-enucleation radiation of large choroidal melanoma: IV. Ten-year mortality findings and prognostic factors. COMS report number 24. *Am J Ophthalmol.* 2004;138(6): 936-51
50. The Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Assessment of metastatic disease status at death in 435 patients with large choroidal melanoma in the Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS): COMS report no. 15. *Arch Ophthalmol.* 2001;119(5): 670-6
51. Shields C. L., Furuta M., Thangappan A., Nagori S., Mashayekhi A., Lally D. R., Kelly C. C., Rudich D. S., Nagori A. V., Wakade O. A., Mehta S., Forte L., Long A., Dellacava E. L., Kaplan B. and Shields J. A. Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter in 8033 consecutive eyes. *Arch Ophthalmol.* 2009;127(8): 989-98
52. Tsianakas A., Böhm M. R., Getova V., Metze D., Eter N., Spieker T., Bräuninger A., Luger T., Schiller M. and Sunderkötter C. Skin metastases in metastatic uveal melanoma: GNAQ/GNA11 mutational analysis as valueable tool. *British Journal of Dermatology.* 2013;169(1): 160-3
53. Werdich X. Q., Jakobiec F. A., Singh A. D. and Kim I. K. A review of advanced genetic testing for clinical prognostication in uveal melanoma. *Semin Ophthalmol.* 2013;28(5-6): 361-71
54. Cook S. A., Damato B., Marshall E. and Salmon P. Psychological aspects of cytogenetic testing of uveal melanoma: preliminary findings and directions for future research. *Eye (Lond).* 2009;23(3): 581-5
55. Dono M., Angelini G., Cecconi M., Amaro A., Esposito A. I., Mirisola V., Maric I., Lanza F., Nasciuti F., Viaggi S., Gualco M., Bandelloni R., Truini M., Coviello D. A., Zupo S., Mosci C. and Pfeffer U. Mutation frequencies of GNAQ, GNA11, BAP1, SF3B1, EIF1AX and TERT in uveal melanoma: detection of an activating mutation in the TERT gene promoter in a single case of uveal melanoma. *Br J of Cancer.* 2014;110(4): 1058-65
56. Fakiris A. J., Lo S. S., Henderson M. A., Witt T. C., Worth R. M., Danis R. P., Des Rosiers P. M. and Timmerman R. D. Gamma-knife-based stereotactic radiosurgery for uveal melanoma. *Stereotact Funct Neurosurg.* 2007;85(2-3): 106-12
57. Emara K., Weisbrod D. J., Sahgal A., McGowan H., Jaywant S., Michaels H., Payne D., Pintilie M., Laperriere N. J. and Simpson E. R. Stereotactic radiotherapy in the treatment of juxtapapillary choroidal melanoma: preliminary results. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;59(1): 94-100
58. The Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Mortality in patients with small choroidal melanoma. *Arch Ophthalmol.* 1997;115(7): 886-93
59. Maat W., Ly L. V., Jordanova E. S., de Wolff-Rouendaal D., Schalijs-Delfos N.E. and Jager M. J. Monosomy of chromosome 3 and an inflammatory phenotype occur together in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(2): 505-10
60. Murdoch C., Muthana M., Coffelt S. B. and Lewis C. E. The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2008;8(8): 618-31

61. Bronkhorst I. H., Ly L. V., Jordanova E. S., Vrolijk J., Versluis M., Luyten G. P. and Jager M. J. Detection of M2-macrophages in uveal melanoma and relation with survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(2): 643-50
62. Mäkitie T., Summanen P., Tarkkanen A. and Kivelä T. Tumor-infiltrating macrophages (CD68 (+) cells) and prognosis in malignant uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(7): 1414-21
63. Toivonen P., Mäkitie T., Kujala E. and Kivelä T. Microcirculation and tumor-infiltrating macrophages in choroidal and ciliary body melanoma and corresponding metastases. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(1): 1-6
64. Heindl L. M., Lotter M., Strnad V., Sauer R., Naumann G. O. and Knorr H. L. High-dose 106-Ruthenium plaque brachytherapy for posterior uveal melanoma. A clinico-pathologic study. *Ophthalmologe.* 2007;104(2): 149-57
65. McLean I. W., Keefe K. S. and Burnier M. N. Uveal melanoma. Comparison of the prognostic value of fibrovascular loops, mean of the ten largest nucleoli, cell type, and tumor size. *Ophthalmology.* 1997;104(5): 777-80
66. Karin M. NF-kappaB and cancer: mechanisms and targets. *Mol Carcinogen .* 2006;45(6): 355-61
67. Devouassoux Shishe Boran M., Grange J. D., Patricot L. M., Adeleine P., Chauvel P., Chiquet C., Vitrey D. and Thivolet Bejui F. Histopathologic study of melanoma of the choroid after proton therapy. *Ann Pathol.* 1997;17(3): 187-92
68. Coupland S. E., Campbell I and Damato B. Routes of extraocular extension of uveal melanoma: risk factors and influence on survival probability. *Ophthalmology.* 2008;115(10): 1778-85

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Kaltrina Zahiti-Rashiti, erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema „Okuläre Pathologie von Aderhautmelanomen nach Ruthenium-106-, Gamma-Knife- und Cyber-Knife-Bestrahlung selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe. Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Allschwil, am 01.09.2017

Kaltrina Zahiti-Rashiti

Lebenslauf

Name, Vorname: Zahiti-Rashiti, Kaltrina

Geb.: Zahiti

Professionelle Laufbahn:

2007-2013: Studium der Humanmedizin an der
LMU/TU München

2010-2013: Famulaturen an Augenkliniken in München, Berlin,
Reykjavik, Stockholm, Liverpool und Basel

12/2013-12/2014: Assistenzärztin am Institut für Klinische Pathologie,
Universitätsspital Zürich (Prof. Dr. H. Moch)

01/2015-07/2017: Assistenzärztin an der Universitätsaugenklinik
Basel (Prof. Dr. H. Scholl)

Seit 08/2017: Assistenzärztin an der Augenklinik des
Kantonsspitals Luzern (Prof. Dr. Dr. M. Thiel)

Danksagung

Ich bedanke mich bei Frau Professor Elisabeth Messmer für die vertrauensvolle Überlassung dieses Themas, für die freundliche Betreuung und ihr außerordentliches Engagement, für konstruktive Anregungen und Anmerkungen zur Vollendung der Arbeit.

Weiters danke ich Frau Annette Serbin und Frau Angelika Pressler für die Herstellung der Präparate und für einen lehrreichen Einblick in das histopathologische Labor der Augenklinik an der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Besonderer Dank gilt meiner Familie für die jahrelange Unterstützung, Zuversicht und Motivation.